

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Obor: Ochrana životního prostředí



## DIPLOMOVÁ PRÁCE

Zotavování zooplanktonního společenstva horských  
jezer z acidifikace

*(Recovery of zooplankton community from the acidification in  
mountain lakes)*

**Vypracovala: Bc. Martina Bartošíková**

**Školitel: RNDr. Veronika Sacherová, Ph.D.**

**Praha, 2018**

**Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne:

.....

Podpis

## Poděkování

Chtěla bych poděkovat své školitelce RNDr. Veronice Sacherové, Ph.D. a konzultantovi RNDr. Janu Fottovi, za cenné rady a trpělivost při řešení této práce. Velké díky patří též hydrobiologickému týmu Jihočeské univerzity za poskytnutí potřebných dat.

## Abstrakt

Horská jezera Šumavy prochází v současnosti procesem zotavování z acidifikace. I přes rychlé zlepšení chemismu zůstává biologické zotavení, tzv. „recovery“, značně opožděno. Tento stav může být zapříčiněn řadou faktorů, mezi které patří například: přetrvávající periodické výkyvy pH a tím i zvýšené vyplavování hliníku, limitace fosforem, rezistence acido-tolerantních společenstev, popřípadě omezené možnosti šíření z okolních lokalit či poškození vaječné banky.

Se zpožděním za zlepšením chemického složení vody postupně přichází zlepšování biologického stavu, který se projevuje v první fázi zvyšováním abundance stávajících druhů, v druhé pak zvyšováním počtu druhů. Kromě ryb se zřejmě nejpomaleji navrácí velké filtrující perloočky rodu *Daphnia*. Přes snahu urychlit jejich návrat v přírodním experimentu repatriací druhů *Cyclops abyssorum* a *Daphnia longispina* do Plešného jezera v roce 2004 se právě perloočky na nové lokalitě neuchytily. Přesto po téměř deseti letech byli v Plešném jezeře zaznamenáni jedinci tohoto druhu v litorálu jezera.

Tato diplomová práce navazuje na výzkum šumavských jezer, který probíhá téměř 150 let. Reakce zooplanktonu na změny chemismu byla studovaná v období 2012-2016 v osmi jezerech ledovcového původu na Šumavě. Byla získána data o abundanci i druhovém složení planktonních korýšů v šumavských jezerech, která byla následně porovnána s dřívějšími záznamy pro posouzení stavu zotavení.

Druhová skladba byla též sledována ve vodních útvarech, které se vyskytují v blízkosti Plešného jezera a mohly by posloužit jako potenciální zdroje perloočky *Daphnia longispina* a jiných planktonních druhů, které mohou být přeneseny do Plešného jezera zvířecími vektory. Mitochondriální gen 12S byl osekvenován u jedinců, kteří byli odebráni z těchto lokalit k následnému porovnání a zjištění původu *Daphnia longispina*, která se ve velmi omezeném počtu vyskytuje v Plešném jezeře. Následné porovnání úseků DNA těchto jedinců by nám mělo odhalit zdrojovou populaci druhu *D. longispina*.

Klíčová slova: acidifikace, zotavení, zooplankton, *Daphnia longispina*, šumavská jezera

## Abstract

Mountain Lakes in Bohemian forest are currently undergoing a process of acidification. In spite of the rapid improvement of chemistry, the biological recovery is considerably delayed. This state may be due to a number of factors, such as persistent periodic pH fluctuations and hence increased aluminum leaching, phosphorus limitation, resistance of acid-tolerant communities, or limited opportunities for spreading from surrounding sites or damage to the egg bank.

With the delay in improving the chemical composition of water gradually comes the improvement of the biological state, which manifests in the first phase by increasing the abundance of the existing species, in the second by increasing the number of species. In addition to the fish, it seems that the largest filtering dwarfs of the genus *Daphnia* are returned. In spite of their efforts to accelerate their return in the natural experiment by repatriating the species *Cyclops abyssorum* and *Daphnia longispina* to Plešné Lake in 2004, the wildebeests did not enjoy the new locality. Still, after almost ten years, individual individuals of this kind were found in lake littoral.

This diploma thesis builds on the research of the Bohemian forest lakes, which is going on for almost 150 years. The zooplankton's response to changes in chemistry was studied in 2012-2016 in eight lakes of glacial origin in the Bohemian Forest. Data on the abundance and species composition of planktonic Crustacean in the Šumava lakes was obtained, which were subsequently compared with previous records for recovery status assessment.

The species composition was also observed in the water bodies that occur near Lake Plešné and could serve as potential sources of the *Daphnia longispina* and other planktonic species that can be transferred to Plešné Lake by animal vectors. The 12S mitochondrial gene was sequenced in individuals who were removed from these sites for subsequent comparison and the discovery of the origin of *Daphnia longispina*, which is found in a very limited number in Plešné Lake. Subsequent comparison of DNA sections of these individuals should reveal the source population of *D. longispina*.

Key words: acidification, recovery, zooplankton, *Daphnia longispina*, Bohemian forest lakes

## Obsah

1. Úvod.....	7
1.1. Horská jezera a jejich acidifikace .....	7
1.2. Proces zotavení z acidifikace.....	8
1.2.1. Faktory ovlivňující rychlost biologického zotavení.....	9
1.3. Molekulárně genetické metody .....	14
1.4. Acidifikace Šumavských jezer .....	16
1.4.1. Černé jezero .....	18
1.4.2. Čertovo jezero .....	19
1.4.3. Prášílské jezero .....	20
1.4.4. Plešné jezero .....	20
1.4.5. Jezero Laka .....	22
1.4.6. Roklanské jezero (Rachelsee).....	22
1.4.7. Velké Javorské jezero (Grosser Arbersee).....	23
1.4.8. Malé Javorské jezero (Kleine Arbersee).....	23
1.5. Ekologie zooplanktonu šumavských jezer .....	24
2. Cíle diplomové práce .....	28
3. Materiál a metody .....	29
4. Výsledky .....	33
Zotavení šumavských jezer .....	33
Analýza DNA .....	41
5. Diskuse.....	43
Biologické zotavení z acidifikace v návaznosti na chemismus.....	43
Variabilita sekvencí DNA.....	49
6. Závěr .....	51
7. Literatura.....	53
Přílohy .....	60

# 1. Úvod

## 1.1. Horská jezera a jejich acidifikace

Mnoho sladkovodních ekosystémů na severní polokouli bylo ve druhé polovině 20. století poznamenáno acidifikací, jejíž příčinou byly především emise oxidů síry, vznikající při spalování hnědého uhlí. Tyto oxidy spolu se srážkami dopadají velkoplošně na zem v podobě silných kyselin. Kvůli dálkovému transportu síry se acidifikace neprojevila pouze v blízkém okolí, ale také v oblastech vzdálených stovky kilometrů. Z tohoto důvodu jsou acidifikací poznamenána rozsáhlá území ve Skandinávii. Intenzita acidifikace závisí na charakteru horninového podloží, nejvýrazněji byly poznamenány povodí s kyselými a mělkými půdami, například podzoly, které se vyskytují na zvětrávajícím žulovém podloží (Schindler, 1988; Vrba et al., 2000; Vrba et al., 2003). Nejvíce zranitelnými se tak stávají horská oligotrofní jezera, která díky vlastnostem podloží mají přirozeně nízkou alkalitu (Straškrabová et al, 2000). Při zásahu kyselou depozicí dochází k drastickým a nevratným změnám v ekosystému. V přirozeně acidifikovaných vodách může být díky specifickým adaptacím množství druhů srovnatelné s vodami neutrálními, ale u jezera s antropogenní acidifikací je charakteristický pokles druhové diversity i celkové abundance (Stenson et al, 1993; Keller, 1998; Wærvågen et Nilssen 2003). Primární příčinou je změna abiotických podmínek. Hlavním stresovým faktorem je pokles pH, který působí přímou toxicitu  $H^+$  iontů. S následným vzrůstem hodnoty pH poté souvisí další významné efekty, jako je působení hliníku, který se v acidifikovaných vodách s hodnotou pH kolem 5 projevuje toxickým působením a vytváří spečeniny s fosforem (Vrba et al., 2006). Dickson (1980) potvrdil, že v rozmezí pH 4,6–6,5 se zvyšuje schopnost hliníku vysrážet se s reaktivním fosforem. Toto je klíčovým mechanismem procesu oligotrofizace acidifikovaných jezer tzv. acidifikací indukované oligotrofizace (Dickson, 1980, Hořická et al., 2006). U acidifikovaných jezer došlo tedy při vzrůstu pH k vysrážení fosforu s hliníkem, fytoplankton byl limitován zdrojem P a došlo k poklesu jeho druhové bohatosti i celkové biomasy, čímž došlo ke snížení primární produkce (Vrba et al., 2006, Kopáček et al., 2000).

Tyto a další abiotické faktory v acidifikovaných jezerech spouští řetězce biotických změn, které začínají vymizením citlivých druhů a někdy eliminací celých funkčních skupin (Stenson and Eriksson 1989). Jakožto hlavní projev acidifikace může být bráno postupné vymírání populací ryb ve skandinávských jezerech i na Šumavě. Rybí populace z velké části určují strukturu společenstev, při jejich absenci přebírají roli vrcholových predátorů

bezobratlé druhy dravých predátorů, jako jsou například larvy koreter (*Chaoborus* spp.), vodní brouci či ploštice čeledi *Corixidae*, ti mohou tvořit velké populace v jezerech, kde se nevyskytují ryby, a tak narušovat oživení zooplanktonu (O'Brien et al., 2004; Gray D. K. et al., 2012). Ryby, které obývají neacidifikovaná oligotrofní jezera, se zaměřují na lov selektivně velké kořisti, a naopak menší bezobratlí dravci se zaměřují na jiné velikostní i druhové spektrum potravy. Tím je vyvíjen rozdílný tlak na populace jiných druhů a je ovlivněn celý potravní řetězec (Stenson, 1983).

## **1.2. Proces zotavení z acidifikace**

Po zavedení přísných emisních limitů a programů na snížení emisí koncem 80. let byl zpozorován výrazný pokles emisí síry. Následně byly zaznamenány první známky chemického zotavení povrchových vod, v evropských jezerech vzrostla alkalita a celkově se zlepšil jejich chemismus. Bohužel ve většině případů nebylo chemické zotavení následováno zotavením bioty (Skjelkvåle et al., 2003, Yan et al., 2003; Nedbalová et al., 2006). Ukázalo se, že biologické zotavení za zlepšením chemických podmínek zaostává až desítky let (Keller and Yan, 1998). Po návratu chemismu do původního stavu se však společenstva nevrací do stejného stavu jako před acidifikací, mohou vznikat jiné typy, jako například společenstva limitovaná rezistencí acido-tolerantních druhů, které obsadily původní niky. Rekolonizace původních druhů může proběhnout rozmnožením zbytkové populace, přenesením z jiné lokality, nebo obnovou z trvalých vajíček (Wærvågen and Nilssen, 2003). Možnost rekolonizace jednotlivých taxonů na postižených lokalitách je specifická pro každou skupinu, záleží především na vytváření rezistentních stádií, vhodných k dálkovému transportu, na dostupnosti zdrojové populace a vektorech šíření (Grey et al., 2012).

Dalšími faktory mohou být například: dostupnost živin pro primární producenty a následná stechiometrie potravy pro konzumenty (Persson, 2008). Posouzení zotavování společenstva závisí na mnoha faktorech a je velmi komplikované. Důležitým faktorem může být volba stanoviště, nebo volba indikátorů (Yan et al., 2003). Keller et al. (1990) ve svých studiích identifikoval mezidruhové rozdíly v toleranci pH jednotlivých druhů zooplanktonu v regionech, které byly poznamenané acidifikací. Díky těmto rozdílům mohly být druhy rozděleny do skupin podle tolerance k okyselení a využity jako indikátory okyselení a zotavení v jezerech, která byly zasažena acidifikací.

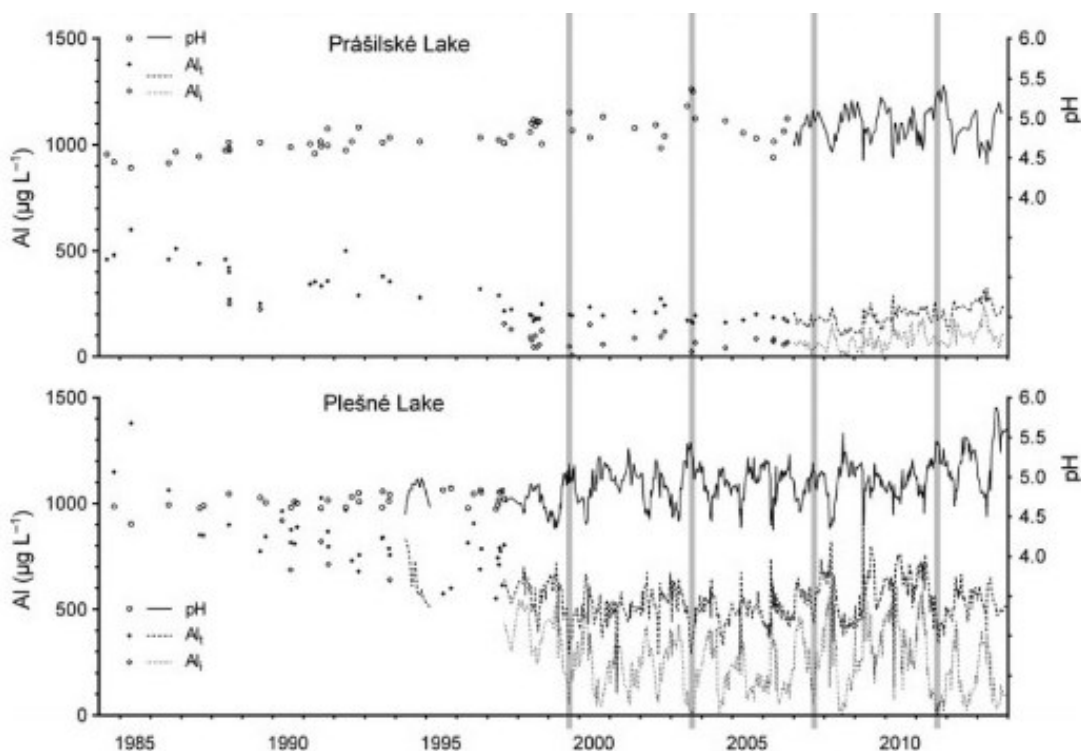
Ukazatelem biologického zotavení může být například návrat acido-senzitivních druhů a pokles druhů acido-tolerantních (Gray & Arnott, 2009).



### 1.2.1. Faktory ovlivňující rychlost biologického zotavení

#### Environmentální faktory

Pro přežití organismů je velice důležité, aby hodnota pH byla v průběhu roku co nejstabilnější, protože i krátkodobé výkyvy mohou mít negativní vliv na rychlost zotavení (Kowalik et al., 2007). Periodické poklesy pH jsou pozorovány zejména během hydrologických změn, jako jsou například zvýšení průtoku při jarním tání či intenzivních deštích (Yan et al. 2003). Při těchto epizodických poklesech se může celý systém navrátit do stavu před zotavením. Guérol et al. (1993) ve své studii zjistili, že limitní pH pro návrat citlivých taxonů je 5,8 – 6,2. Při epizodických poklesech může hodnota pH poklesnout až na hodnoty 4,5-5,0, současně při těchto hodnotách vykazují kovy nejvyšší toxicitu. Vodní stanoviště, které je za normálních podmínek vhodné pro návrat druhů, se za zvýšeného průtoku, kdy dochází ke snížení hodnoty pH a s tím spojenému zvýšení koncentrací kovů, může stát pro vodní organismy toxické (Kowalik et al., 2007). Tyto sezónní a periodické výkyvy pH a koncentrace hliníku jsou viditelné na obrázku č. 1.



Obrázek 1: Trendy vývoje pH a hliníku v Plešném a Prášilském jezeře (Vrba et al., 2016)

## **Schopnost disperze**

Obecně lze pojem disperze chápat jako proces šíření druhu. Disperze je výraz ekologický, který se používá pro popsání různých strategií a způsobů, které organismy používají k překonávání vzdálenosti, fyzických bariér, a dokonce i času (Townsend *et al.*, 2008). Zajišťuje obsazování nových volných stanovišť a je hlavním nástrojem genového toku mezi stávajícími populacemi. Jedná se o schopnost, která je nezbytná pro stabilitu a dlouhodobou existenci druhu, přirozené riziko vnitrodruhové i mezidruhové kompetice a zmírňuje negativní dopad různých nepřímých environmentálních vlivů. Tento proces je často vyvolán změnami prostředí, jako jsou klimatické výkyvy, fragmentace habitatu či invaze nepůvodních druhů, je spojený se schopností pohybu a s rozmnožovacím cyklem. Disperze neovlivňuje pouze distribuci a genetickou strukturu populace, ale též celkovou populační dynamiku, protože zasahuje do energetických toků a fitness populace (Bowler & Benton, 2005).

Vnitrozemské vody jsou často izolovány od sebe navzájem, jsou vynikajícím příkladem tzv. ostrovních stanovišť. Jsou rozmístěny nepravidelně a vzájemně od sebe izolované, proto je z hlediska metapopulační teorie můžeme chápat jako ostrovy vody v moři suché země. Extrémní izolace je pozorovatelná například v dočasných tůňkách v semiaridním prostředí, ale také v řekách a potocích, které patří k různým povodím. Pro úspěšné přežití na těchto lokalitách se musely organismy adaptovat různými způsoby. Bezobratlé organismy na těchto lokalitách tak musejí být schopny překonávat bariéry mezi jednotlivými stanovišti (Cáceres, 1997). Musí se například velice úspěšně šířit i na velké vzdálenosti a ve svém životním cyklu mít zařazeno stádium, které dokáže přežít mimo vodní prostředí. Tato vlastnost je klíčová pro udržení genového toku, bez něhož se malé populace geneticky homogenizují a tím se pro ně zvyšuje riziko lokální extinkce v případě náhlých změn prostředí. U zooplanktonu se vzhledem k velikosti organismů velmi těžko určuje charakter a intenzita disperze. Míra disperze se proto většinou určuje z jiných ukazatelů, jako jsou studie průběhu osidlování nových stanovišť, nebo fylogeografické studie (Cañedo-Argüelles & Rieradevall, 2011). Organismy, které nejsou schopny šíření, z lokalit mizí. Proto nacházíme na většině izolovaných lokalit v dané oblasti stejné druhy (Dieckmann & O'Hara, 1999).

Rekolonizace druhu může proběhnout ze tří zdrojů: (a) Autochtonní populace, která v nízkém počtu přežila na bezpečném stanovišti (například v litorálu), (b) rezistentní vajíčka či jedinci ve stádiu diapauzy v jezerních sedimentech a (c) přenesením z okolních jezer. Rozsáhlé regionální poškození stanoviště může snížit diverzitu kolonizujících druhů, stejně

jako dlouhodobé poškození může mít za následek vyčerpání pozůstalých populací a „pohřbení“ jedinců ve fázi diapauzy (Cohen & Shurin, 2003).

Obecně platí, že schopnost šíření u mnoha druhů zooplanktonu, zejména u druhů, které se rozmnožují cyklickou partenogenezí, jako perloočky a vířníci, je vzhledem k produkci rezistentních vajíček vysoká (De Meester et al., 2002). Trvalá vajíčka některých druhů mohou zůstat v sedimentu několik desítek let a po vylíhnutí mohou začlenit staré alely do stávajícího genofondu. Tímto způsobem probíhá genový tok v čase. V sedimentu jezer tak vznikají vaječné banky, které obsahují velké množství různě starých vajíček. Tato vajíčka zůstávají životaschopná po desetiletí a umožňují druhům, které obývaly jezero před nástupem acidifikace, rekolonizovat stanoviště, jakmile jsou podmínky vhodné pro přežití (Hairston et al., 1995). Vajíčka z vaječné banky se nikdy nevylíhnou všechna najednou, naopak některá zůstávají neaktivní i za příznivých podmínek prostředí (tzv. bet-hedging strategie). Mohou tak sloužit k rychlé rekolonizaci stanoviště v případě, že dojde k periodickému střídání nepříznivých a příznivých podmínek a některé z vylíhnutých generací se nepodaří rozmnožit (Hairston et al. 1995, Hairston 1996).

Adaptace na lokální podmínky obvykle následuje po kolonizaci nových habitatů a může mít výrazný vliv na genetickou diverzitu mezi jednotlivými lokalitami. Genetická struktura populací organismů, které obývají tyto biotopy, je určována intenzitou genetického toku mezi jednotlivými ostrovy, životním cyklem a adaptací na proměnlivý biotop (De Meester, 1996; De Meester et al., 2002).

Nicméně vysoká schopnost šíření nezaručuje úspěšnou kolonizaci nových lokalit. (Frisch et al. 2007; Cáceres & Soluk, 2002). Klanonožci nejsou schopni vytvářet rezistentní vajíčka a mohou tedy být omezenou schopností disperze ovlivněni více než perloočky (Binks et al., 2005). Nepříznivé podmínky přecházejí ve stádiu diapauzy a ve stádiu vegetačního klidu, při kterém se živočich dostává do stavu hibernace, cryptobiosy či anhydrobiosy (Brendonck & De Meester, 2003).

Perloočky rodu *Daphnia* jsou velice úspěšnými kolonisty, jediné efipium stačí pro založení nové populace. Část rezistentních vajíček se rozptýlí v prostoru a část je transportovaná pomocí zvířecích vektorů, jako jsou přenos díky vodnímu ptactvu, jiným vodním bezobratlým, velkým obratlovcům, na kterých se mohou na krátké vzdálenosti šířit i dospělí jedinci, a v neposlední řadě člověk a jeho činnost (Panov et al., 2004, Williams et al., 2008).

Frisch et al. (2007) ve své studii dokázali, že široké spektrum taxonů je ve volné přírodě přepravováno v trávicím traktu vodního ptactva. Tyto taxony zahrnovaly též rody

*Daphnia*, *Moina* a Copepoda. Během svých experimentů dokázali též, že dospělí jedinci Copepoda jsou schopni přežít cestu v trávicím traktu ptáků. V předešlých studiích odebrané fekální vzorky vodních ptáků prokázaly, že v trávicím traktu jsou transportovány životaschopná efípia (Figuerola et al., 2005). Poměrně vysoký podíl vzorků výkalů, které obsahují životaschopné bezobratlé v dané studii, naznačuje, že transport v trávicím traktu vodního ptactva je běžný proces a má velký význam (Frisch et al., 2007).

Některé přítoky a odtoky jezer na Šumavě by mohly soužit jako potenciální zdroj bezobratlých kolonizátorů. I přes relativně rozsáhlé účinky acidifikace se většina z horských druhů, které jsou známy z doby před acidifikací, vyskytuje v regionu (Soldan et al., 2012). Potenciální zdroje populací zooplanktonu obývajících různé vodní útvary jsou vzdálené, což komplikuje (endo)zoochorii (Nielssen & Wærvagen, 2003; Wærvagen & Nielssen, 2003), a to zejména u Copepoda, která nemají stadia odolná vůči vysychání. Kromě toho prostředí může být stále nevhodné pro úspěšnou kolonizaci (Gray & Arnott, 2011).

### **Mezidruhové interakce**

Při poklesu pH pod mez tolerance pro přežití vodních organismů dochází k jejich vymizení ze stanoviště. Na změnu chemismu reagují jednotlivé taxony různě v závislosti na jejich toleranci vůči danému jevu. V důsledku toho dochází ke změně složení společenstev. Pro většinu vod postižených acidifikací je typická přítomnost jednoho dominantního acido-tolerantního druhu perloočky nebo klanonožce, v Tatrách je tímto druhem například perloočka *Chydorus sphaericus* a v šumavských jezerech buchanka *Cyclops abyssorum* (Hořická et al., 2006; Vrba et al., 2009). Tyto acido-tolerantní druhy mohou zabraňovat úspěšnému návratu acido-senzitivních druhů, protože obsadily jejich původní niky, i když hodnota pH dosahuje prahové hodnoty 6,0 a stanoviště je vhodné pro jejich návrat (Keller & Yan, 1998). Podobnou situaci můžeme pozorovat i tehdy, když dojde ke snížení počtu ryb nebo k jejich celkovému vymizení. Jejich funkce jakožto vrcholových predátorů může být nahrazena bezobratlými dravci (Arnott et al., 2006), jako jsou například larvy koreter (*Chaoborus* spp.), vodní brouci či ploštice čeledi Corixidae, ti mohou tvořit velké populace v jezerech, kde se nevyskytují ryby, a tak ovlivňovat oživení zooplanktonu (O'Brien et al., 2004; Gray et al., 2012). Ryby se zaměřují zejména na selektivně větší kořist, koretry se naopak zaměřují na konzumaci malých perlooček a mohou ovlivnit druhovou skladbu perlooček. Několik studií naznačuje, že *Chaoborus punctipennis*, nejběžnější druh ve studovaných jezerech v Kilarney park (Kanada) upřednostňuje perloočky před klanonožci (Croteau, Hare & Marcoux, 2003). Při vysoké početnosti koreter může spotřeba malých druhů, jako je například *Bosmina* sp., překonat celkovou produkci kořisti (Yan et al., 1991).

## **Kvalita potravy**

Zooplankton může být ovlivněn i nepřímými dopady acidifikace, jako jsou množství a kvalita potravy. Dickson (1980) potvrdil, že v rozmezí pH 4,6–6,5 se zvyšuje schopnost hliníku vysrážet se s reaktivním fosforem. Toto je klíčovým mechanismem procesu oligotrofizace acidifikovaných jezer, tzv. acidifikací indukované oligotrofizace (Dickson, 1980, Hořická et al., 2006). U acidifikovaných jezer došlo tedy při vzrůstu pH k vysrážení fosforu s hliníkem, fytoplankton byl limitován zdrojem fosforu a došlo k poklesu jeho druhové bohatosti i celkové biomasy, tedy ke snížení primární produkce (Vrba et al., 2006, Kopáček et al., 2000). Tento proces byl zaznamenán v Tatrách mezi lety 2001–2002, hodnota pH stoupla na hodnotu 5,2 a došlo k vysrážení fosforu. Vlivem nedostatku potravních zdrojů místní zooplankton téměř vymizel (Fott et al., 1994, Hořická et al., 2006). Pro oligotrofní jezera jsou charakteristické nízké koncentrace chlorofylu *a*, který je ukazatelem množství řas a sinic ve vodách. Zooplanktonní filtrátoři jsou tak v těchto jezerech regulováni množstvím potravy a to se projevuje poklesem jejich abundance a diversity (Persson, 2008). Hlavní složky potravy zooplanktonu jsou řasy a heterotrofní organismy (bakterie a prvoci), perloočky (Cladocera) a vířníci (Rotifera) získávají potravu filtrací. Potravou buchaneček (Cyclopoida) jsou řasy i některé zooplanktonní druhy, při získávání potravy nevyužívají filtraci, potravu aktivně chytají (Brönmark & Hansson 2005).

Poměr biogenních prvků C:N:P v řasách není konstantní, záleží na jejich koncentraci v okolním prostředí, někdy dochází k limitaci některým z nich. Právě tato limitace ovlivňuje kvalitu řas jakožto zdroje potravy. Poměr prvků, tedy stechiometrie biogenních prvků v potravě, je důležitý faktor pro přežívání, růst a rozmnožování sladkovodního zooplanktonu. Jednotlivé druhy zooplanktonu se liší poměrem C:N:P v biomase, z tohoto důvodu mají rozdílné nároky na kvalitu potravy; pokud konzumují dostatečně kvalitní potravu, projeví se to na jejich rychlosti růstu i rozmnožování. *Daphnia* je rychle rostoucí herbivor, pro svůj růst potřebuje velké množství P v potravě. Klanonožci mají naopak v těle menší podíl P, než perloočky, to vypovídá o tom, že jsou to pomalu rostoucí organismy a vyhovuje jim potrava s nižším poměrem N:P (Sterner a kol. 1993). V jezerech, která jsou limitovaná P, můžeme pozorovat snížení růstových rychlostí a rozmnožování u taxonů s nízkým poměrem N:P a vysokými nároky na P. Perloočky rodu *Bosmina* a někteří zástupci skupiny Copepoda nemají vysoké nároky na P, jsou považovány za pomalu rostoucí druhy, proto jejich růst není nijak výrazně limitován v jezerech, která jsou oligotrofní, jako je to například u rodu *Daphnia*. Kvalitou potravy je také výrazně ovlivněna schopnost rozmnožování a množství potomků. Při nedostatku P můžeme u rodu *Daphnia* pozorovat omezenou schopnost

rozmnožování i menší počet vajíček, která mají menší velikost i menší množství vaječného žloutku (Sterner a kol. 1993).

### **1.3. Molekulárně genetické metody**

Morfologické a morfometrické metody byly prvním nástrojem identifikace druhů, před rozvojem genetických metod. Zabývaly se především fenotypem jedince, hlavním předmětem bylo sledování typických morfologických znaků, jejich počet, či umístění na těle organismu. Morfometrie tyto znaky popisuje metricky. Společně s genetickými metodami jsou součástí komplexního determinačního přístupu v laboratorním prostředí, současně v terénu jsou však jedinou možností identifikace jedinců.

V posledních letech dochází k rychlému rozvoji molekulárně genetických metod a narůstají možnosti jejich využití v mnoha odvětvích současné biologie. Hojně jsou využívány například v odvětvích populační biologie, etologie, evoluce a systematické biologie, díky nimž v tomto odvětví lze odhalit taxonomické postavení druhů v situacích, kde tradiční morfologické a morfometrické metody selhávají. V podmínkách *in vitro* lze pomocí molekulárních metod namnožit požadované nukleotidové sekvence, které jsou přítomny ve vybraném typu DNA, a na základě podobností těchto sekvencí sledovat vzájemnou příbuznost u různých druhů nebo jejich populací (Zima et al., 2004).

Pro studium taxonomického členění a fylogenetického vývoje druhů se používají jaderné a mitochondriální geny (Hillis a Dixon, 1991). Mitochondriální geny (mtDNA) mají oproti jaderným genům několik výhod. Hlavní výhodou je, že cyklická molekula mtDNA je v buňkách přítomna ve velkém počtu kopií, díky čemuž ji můžeme snadno namnožit a následně osekvenovat. Cyklická molekula mtDNA je haploidní a do dalších generací se předává pouze po mateřské linii a nedochází tedy k rekombinaci genů mezi dvěma rodiči, jako u jaderné DNA, genetická informace tudíž přechází z matky na potomka nezměněná. Další výhodou je její rychlý vývoj, způsobený vysokou frekvencí nukleotidových substitucí, díky tomu je vhodným nástrojem pro určení příbuznosti a fylogenetických vztahů v rámci druhu i mezi blízce příbuznými druhy (Zima et al., 2004; Hillis and Dixon, 1991; Lynch and Jarrell, 1993).

Pro odvozování fylogenetických stromů příbuznosti se často nevyužívá celá sekvence mitochondriální DNA, ale pouze její části. Nejčastěji se sekvenují mitochondriální ribosomální geny pro 12S srRNA a pro 16S lrRNA nebo geny pro COI (cytochromoxidáza, nejčastěji podjednotka c) (Lynch a Jarrell, 1993). U těchto mitochondriálních genů lze sledovat rozdíly v rychlosti jejich vývoje a následně odvodit, pro jakou taxonomickou úroveň

se hodí. Sekvence, které se rychleji vyvíjí a dochází u nich k častým nukleotidovým substitucím, jsou vhodné pro studium fylogeneze na nižších taxonomických úrovních. Oproti tomu konzervativnější sekvence s nižším počtem nukleotidových substitucí jsou vhodné pro vyšší taxonomické úrovně (Lynch a Jarrell, 1993).

Kompletní nukleotidové sekvence mtDNA byly získány z mnoha organismů. V rámci sladkovodních bezobratlých mohu zmínit například perloočku druhu *Daphnia pulex* (Crease, 1999).

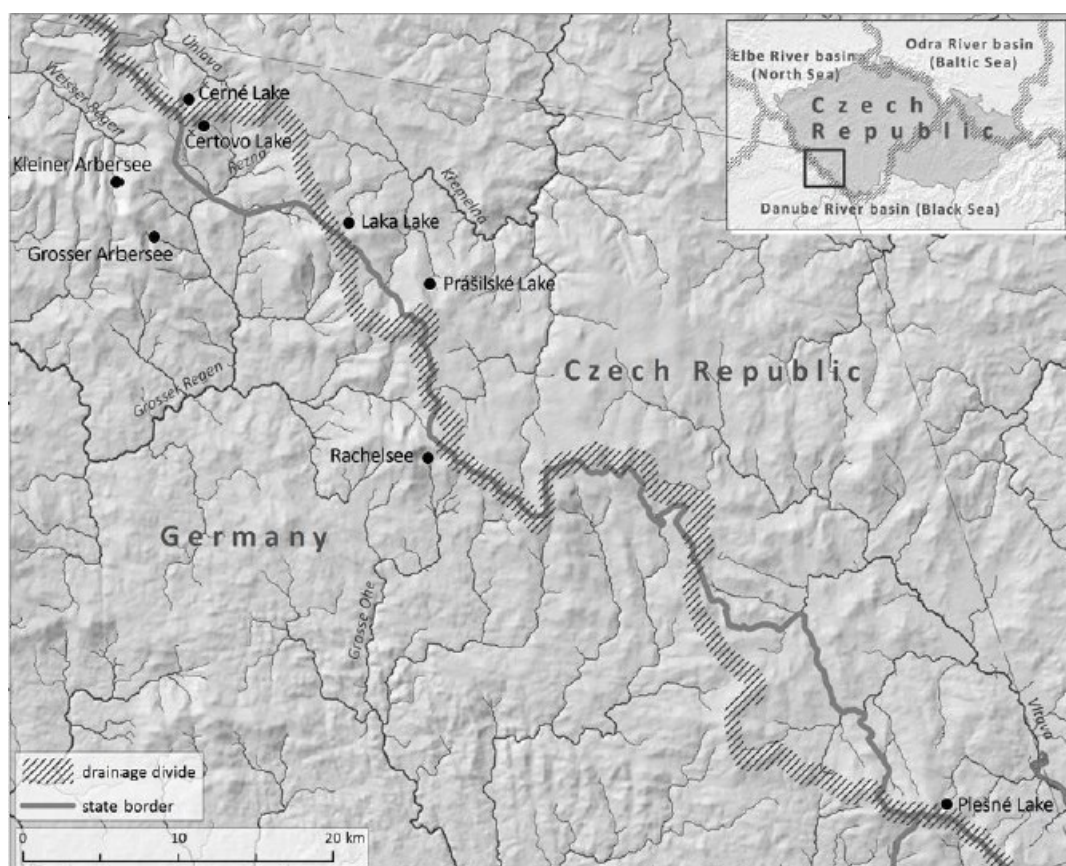
Sladkovodní korýši jsou skvělým modelovým organismem také v odvětví invazivní biologie. Genetické analýzy umožňují kvantifikaci výzkumů o historických i současných invazích. Stanovením genetické rozdílnosti mezi evropskými a severoamerickými liniemi Cladocera, je možné odhadnout jejich přirozený výskyt v minulosti a historické migrace mezi těmito kontinenty. Genetické studie mohou využít molekulárních markerů k nalezení místa původu druhů a hrát tedy i velice důležitou roli při monitorování invazí (Hebert et al., 2002). Cristescu et al. (2001) použili analýzu mtDNA k prozkoumání původu invazivního druhu perloočky *Cercopagis pengoi*. Haplotypy naznačují, že její populace v Baltském moři pocházejí z Černého moře a že tuto invazi zahrnovalo pouze několik jedinců, možná i samostatný jedinec. Následná invaze do velkých kanadských jezer byla pravděpodobně důsledkem přenosu jednotlivců z Baltského moře.

Analýza mtDNA vyloučila australské populace perloočky *Daphnia lumholtzi*, jako zdroj pro Severoamerické linie. Mezi africkými a asijskými populacemi byla však velice nízká divergence a nepodařilo se přesně určit zdrojovou populaci. Pro přesnější určení by byla potřeba rozsáhlá vzorkování na obou kontinentech (Havel et al., 2000).

Zmiňované studie jsou dobrým podkladem toho, že molekulární metody, které zahrnují amplifikace a sekvenaci mitochondriální DNA jsou vhodným nástrojem pro zkoumání příbuznosti mezi druhy i jednotlivými populacemi. Z tohoto důvodu byla v této práci použita sekvenace mitochondriálního genu 12S rRNA. Jednotlivé sekvence a jejich následné porovnání mají potenciál určit genetickou variabilitu perloočky *Daphnia longispina* na Šumavě a následně určit zdrojovou lokalitu, odkud se perloočka rozšířila do Plešného jezera.

## 1.4. Acidifikace Šumavských jezer

Výzkum probíhá v osmi malých jezerech ledovcového původu na Šumavě. Jezera leží podél hranice mezi Českou republikou a Německem na zalesněném území s acidosenzitivním podložím (bližší charakteristika zapsaná v Tabulce č. 1). Pět jezer se nachází na území České republiky – Černé (CN), Čertovo (CT), Prášílské (PR), Plešné (PL) a Laka (LA) a tři jezera na území Německa - Rachelsee (RA), Grosse Arbersee (GA) a Kleiner



Obrázek 2 Mapa Šumavy s polohou jednotlivých jezer (Zdroj: Soldán et al., 2012)

Vzhledem k dlouhodobému výzkumu, který na Šumavě probíhá už skoro 150 let, máme k dispozici soubor dat, díky kterým můžeme posoudit průběh jejich zotavení z acidifikace (Frič, 1873; Šrámek-Hušek, 1942). Na počátku 80. let proběhla nejhorší fáze acidifikace, byly zaznamenány velice vysoké depozice dusíku a síry. V jejichž důsledku prošla jezera extrémní acidifikací, při kterých koncentrace hliníku ve vodě dosahovaly extrémních hodnot (Evans et al., 2001; Kopáček et al., 2001). Tyto změny zapříčinily zánik populací většiny druhů zooplanktonu, v ekosystémech byly potlačeny vyšší trofické úrovně a byla posílena role mikrobiální smyčky (Vrba et al, 2003).



Dosavadní studie naznačují, že složení i celková biomasa planktonu v šumavských jezerech jsou limitovány zejména přísunem fosforu a hliníku do jednotlivých jezer (Vrba et al., 2001). Na přelomu 70. a 80. let byly v jezerech zaznamenány jen acido-tolerantní druhy, například v litorálu drobné perloočky z čeledi Chydoridae a vznášivka *Heterocope saliens*. V Prášílském jezeře překaly vrcholnou acidifikaci tři druhy planktonních korýšů – perloočky *Daphnia longispina*, *Polyphemus pediculus* a buchanka *Cyclops abyssorum*, které v okolních jezerech téměř vyhynuly. Tyto druhy v Prášílském jezeře přežily díky nízkým koncentracím hliníku, které jsou zde poloviční než v ostatních jezerech (Fott et al., 1994).

Tabulka 1. Základní parametry šumavských jezer

Jezero	Plocha jezera (ha)	Plocha povodí (ha)	Max hloubka (m)	Nadmořská výška (m)	Dominantní podloží	Dominantní porost
Černé	18,8	124	40	1008	slída, břidlice	smrk
Čertovo	10,7	89	35	1028	slída, břidlice	smrk
Plešné	7,6	67	19	1087	žula	smrk
Prášílské	4,2	65	17	1079	slída, břidlice, žula	smrk
Laka	2,6	135	3	1085	rula	smrk
Rachelsee	5,7	58	13	1071	rula	smrk
Grosse Arbersee	7,7	258	16	935	rula	smrk, buk
Kleiner Arbersee	9,4	279	9	918	rula	smrk, buk

Chemické zotavení začalo probíhat začátkem 90. let 20. století jako odezva po poklesu atmosférické depozice síry (Kopáček et al., 2001). Projevilo se zejména nárůstem koncentrací bazických kationtů a hliníku (Al), nárůstem hodnoty pH, kyselinové neutralizační kapacity (KNK) a koncentrací rozpuštěného organického uhlíku (DOC) (Vrba et al., 2006; Vrba et al., 2014).

Lakes (codes) Characteristics	Černé Lake (CN)	Čertovo Lake (CT)	Plešné Lake (PL)	Prášílské Lake (PR)	Rachelsee (RA)	Großer Arbersee (GA)	Kleiner Arbersee (KA)	Laka Lake (LA)
TRT (days)	661	587	277	157	87	47	24	14
Secchi depth (m)	7.7 ± 2.4	3.7 ± 1.2	1.1 ± 0.3	3.5 ± 0.7	5.5 ± 3.1	4.1 ± 0.8	3.0 ± 1.0	2.6 ± 0.1
pH	4.89 ± 0.12	4.64 ± 0.12	5.20 ± 0.19	5.18 ± 0.19	5.24 ± 0.28	5.97 ± 0.09	5.58 ± 0.16	5.87 ± 0.42
ANC (mmol L <sup>-1</sup> )	-13.3 ± 8.2	-28.0 ± 15.7	-2.0 ± 6.7	-2.0 ± 9.9	-5.0 ± 12.7	23.0 ± 8.9	10.5 ± 9.8	27.8 ± 23.8
P <sub>i</sub> (µg L <sup>-1</sup> )	2.6 ± 1.1	3.7 ± 1.2	11.7 ± 3.5	6.4 ± 0.9	5.2 ± 2.8	5.8 ± 0.8	7.7 ± 2.1	7.4 ± 2.4
P <sub>d</sub> (µg L <sup>-1</sup> )	1.0 ± 0.3	1.2 ± 0.9	2.7 ± 1.2	2.4 ± 0.6	2.1 ± 1.3	3.3 ± 0.9	4.2 ± 1.0	3.1 ± 1.3
NO <sub>3</sub> -N (µg L <sup>-1</sup> )	780 ± 63	445 ± 15	487 ± 517	255 ± 138	587 ± 462	235 ± 71	187 ± 106	602 ± 346
Cl <sup>-</sup> (µg L <sup>-1</sup> )	554 ± 50	487 ± 43	454 ± 78	516 ± 55	391 ± 73	400 ± 53	473 ± 68	699 ± 98
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	3.2 ± 0.7	3.5 ± 1.0	3.2 ± 1.0	1.7 ± 0.6	2.5 ± 0.4	2.5 ± 0.6	2.6 ± 0.4	1.4 ± 0.3
DOC (mg L <sup>-1</sup> )	1.7 ± 0.4	2.8 ± 0.8	3.0 ± 0.6	4.8 ± 1.0	2.3 ± 1.7	3.2 ± 0.9	4.0 ± 1.0	4.4 ± 1.2
C : P (molar)	922 ± 362	779 ± 104	1240 ± 695	352 ± 202	1013 ± 611	404 ± 132	558 ± 266	325 ± 70
Mg <sup>2+</sup> (µg L <sup>-1</sup> )	416 ± 30	291 ± 23	209 ± 57	302 ± 46	366 ± 70	332 ± 27	305 ± 35	425 ± 67
Ca <sup>2+</sup> (µg L <sup>-1</sup> )	810 ± 185	477 ± 232	928 ± 206	529 ± 73	711 ± 116	962 ± 121	789 ± 160	839 ± 184
Na <sup>+</sup> (µg L <sup>-1</sup> )	706 ± 29	580 ± 21	956 ± 114	651 ± 31	537 ± 59	764 ± 58	762 ± 50	1109 ± 185
K <sup>+</sup> (µg L <sup>-1</sup> )	440 ± 20	270 ± 33	540 ± 286	360 ± 194	412 ± 196	214 ± 27	188 ± 22	500 ± 215
Al <sub>t</sub> (µg L <sup>-1</sup> )	243 ± 43	340 ± 54	388 ± 83	176 ± 15	239 ± 51	129 ± 25	168 ± 32	147 ± 48
Al <sub>p</sub> (µg L <sup>-1</sup> )	34 ± 16	45 ± 54	271 ± 70	37 ± 27	127 ± 42	40 ± 15	42 ± 17	51 ± 37
Al <sub>i</sub> (µg L <sup>-1</sup> )	195 ± 50	264 ± 91	72 ± 65	45 ± 16	68 ± 34	19 ± 18	29 ± 29	20 ± 21
Chl <sub>a</sub> (µg L <sup>-1</sup> )	2.2 ± 1.2	3.6 ± 0.9	24.7 ± 8.4	5.4 ± 1.6	4.7 ± 4.4	3.4 ± 1.4	7.9 ± 6.7	5.3 ± 2.0
HB (µg C L <sup>-1</sup> )	101 ± 140	99 ± 125	159 ± 135	46 ± 51	99 ± 66	50 ± 52	40 ± 24	66 ± 53

Obrázek 3: Základní chemické parametry šumavských jezer v období 1999-2011 (Zdroj: Vrba et al., 2016)

Studie, které se zabývají chemismem acidifikovaných jezer v Evropě, dokazují, že v jezerech na Šumavě a v Tatrách došlo k nejvýraznějšímu zotavení (Evans et al., 2001). Zároveň se však ukazuje, že počátek biologického zotavení je za chemickým výrazně opožděn, a to přibližně o 20 let (Nedbalová et al., 2006).

V 90. letech byly evidovány první náznaky biologického zotavení, mezi něž patřil postupný návrat perloočky *Ceriodaphnia quadrangula* do Černého (1997), Prášílského (2002) i Čertova jezera (2007) a také nárůst biomasy fytoplanktonu v Plešném jezeře, který byl doprovázen výrazným nárůstem početnosti vířníků (Ungermanová et al. 2014).

#### 1.4.1. Černé jezero

Profesor Frič navštívil Černé jezero poprvé v roce 1871. Ve svých protokolech popisuje nález *Acanthodiptomus denticornis*, *Cyclops abyssorum* a *Bosmina longispina* v pelagiálu. V litorální zóně byly nalezeny následující druhy: perloočka *Polyphemus pediculus*, buchanky *Macrocyclus fuscus*, *Eucyclops serrulatus* a vznášivka *Acanthodiptomus denticornis*. V odběrech z větších hloubek bylo nalezeno velké množství perlooček *Holopedium gibberum* a *aphnia longispina* (Frič a Vávra, 1898). V roce 1890 byl do jezera vysazen siven americký, tento antropogenní zásah měl za následek výrazné narušení stability ekosystému. Došlo ke značné redukci i následnému vymření některých druhů zooplanktonu, konkrétně druhů *Holopedium gibberum*, *Daphnia longispina*, *Bosmina longispina* a *Acanthodiptomus denticornis* (Vrba a kol., 2003). V roce 1873 nebyly v jezeře zaznamenány perloočky *Daphnia longispina* a *Polyphemus pediculus*, pravděpodobná příčina byla intenzivní rybí predace či snížení hladiny Černého jezera o 3 metry kvůli opravě stavidla. Poté nastává ve výzkumu šumavských jezer dlouhá pauza. V roce

1882 byl zaznamenán opětovný návrat perloočky *D. longispina*, v hojném počtu se též vyskytovala *Bosmina longispina*, *Holopedium gibberum* a ve všech hloubkách žila buchanka *Cyclops abyssorum*. V litorálu se objevily perloočky *Acroperus harpae* a *Ceriodaphnia quadrangula* (Frič a Vávra, 1898).

V roce 1936 studoval v jezeře Šrámek-Hušek vertikální distribuci zooplanktonu. V epilimniu přebývala *Ceriodaphnia quadrangula* a v metalimniu *Cyclops abyssorum*. Ve svých závěrech však upozornil na postupné vymírání druhů *Holopedium gibberum*, *Daphnia longispina*, *Bosmina longispina* a *Acanthodaptomus denticornis* (Vrba a kol., 2000). Následně v roce 1947 jezero navštívil Weiser, který ve výsledcích zjistil, že je společenstvo zooplanktonu druhově chudší a dominuje perloočka *Holopedium gibberum* (Veselý, 1994). Hrbáček se svou expedicí v letech 1960-1961 zaznamenal výskyt následujících druhů: *Cyclops abyssorum*, *Ceriodaphnia quadrangula*, *Acroperus harpae* a *Alonopsis elongata* (Procházková a Blažka, 1999).

#### 1.4.2. Čertovo jezero

Historie výzkumu tohoto jezera se datuje od roku 1871, kdy jej též navštívil profesor Frič, ten poznamenal, že druhovou skladbou se velice podobá Černému jezeru, jen *Holopedium gibberum* se vyskytovalo v menším množství (Frič a Vávra, 1898). Mezi lety 1894-1896 byl zaznamenán výrazný nárůst abundance *Daphnia longispina* a buchanky *Cyclops abyssorum* a absence druhu *Holopedium gibberum*. V litorálu se vyskytovaly následující druhy (jak je jmenuje Frič): *Polyphemus pediculus*, *Acroperus leucocephalus*, *Alonopsis elongata*, *Alonella excisa*, *Peracantha truncata*, *Ceriodaphnia quadrangula* a *Eurycercus lamellatus* (Frič a Vávra, 1898). Mezi lety 1942 a 1947 navštívil jezero Šrámek-Hušek a Jírovec. Na začátku 60. let provedl průzkum Hrbáčkův tým, v protokolech bylo poznamenáno, že v jezeře bylo velmi málo planktonu (0,05 ind/l), což bylo pravděpodobně zapříčiněno poklesem pH, v té době byla hodnota pH 5,0. V litorálu se vyskytovala především *Alonopsis elongata*. Nalezeny byly též *Acroperus harpae*, *Alona quadrangularis* a *Polyphemus pediculus* (Veselý, 1994; Ošmera, 1971). Od roku 1982 se na Čertově jezeře provádí pravidelné odběry. Do roku 1999 zde nebyl zaznamenán žádný typický planktonní druh korýše, v některých vzorcích byly nalezena buchanka *Acanthocyclops vernalis*. Litorál obývaly perloočky *Acroperus harpae* a *Alonopsis elongata* (Fott et al., 1994).

### 1.4.3. Prášilské jezero

První odběry v Prášilském jezeře provedli Frič s Hellichem v roce 1871 (Frič, 1872). Snažili se zjistit přítomnost perloočky *Holopedium gibberum*, ta se v odebraných vzorcích bohužel neobjevila. Z technických důvodů byly primárně odebrány litorální vzorky, síť obsahovala pouze vznášivky *Acanthodiaptomus denticornis*, hojně se vyskytoval *Acroperus harpae*, který však stejně jako ostatní druhy žil i v dalších jezerech. Běžná byla *Ceriodaphnia quadrangula*. Nalezeny byly také buchanky *Cyclops abyssorum* a *Eucyclops serrulatus*. Profesor Frič jmenuje také perloočku *Daphnia longispina*, Hellich (1878) ji ale ve své revizi nemá (Frič, 1872).

V následujícím dlouhém období jezero nikdo nenavštívil, teprve až v roce 1960-1961 (za počínající acidifikace) jej navštívila skupina docenta Hrbáčka, ve svých protokolech uvádí pouze dva druhy: *Cyclops abyssorum* a *Daphnia longispina* (Procházková a Blažka, 1999; Kohout, 2001).

Následující pravidelné odběry se uskutečnily až od roku 1986. Fott et al. (1994) našli v pelagiálu četné populace buchanky *Cyclops abyssorum* a perloočky *Daphnia longispina*, které se v té době vyskytovaly pouze v jezeře Laka (omezeně *D. longispina*) a Grosser Arbersee (*C. abyssorum*). Příčinou jejich přežití byly pravděpodobně nižší koncentrace toxického hliníku, který s organickými kyselinami tvoří sraženiny a není tak pro živočichy škodlivý (Fott a kol. 1994). V litorálu byly běžné perloočky *Acroperus harpae* a *Polyphemus pediculus*, ojediněle se vyskytla též *Alonopsis elongata*. Zajímavý, ale též sporný, byl nález jediného jedince perloočky *Holopedium gibberum* v říjnu 1998, odběry v letech 1999 a 2000 jeho přítomnost však v Prášilském jezeře nepotvrdily (Kohout, 2001).

### 1.4.4. Plešné jezero

Zooplankton tohoto jezera se od ostatních jezer vždy velmi odlišoval. Prof. Frič a Dr. Vávra navštívili Plešné jezero o rok později než ostatní šumavská jezera, a to v roce 1872 (Frič, 1873). Ve své práci uvádí přítomnost perloočky *Daphnia longispina*, vznášivky *Acanthodiaptomus denticornis* a vznášivky *Heterocope saliens*, litorální perloočky *Simocephalus exspinosus*, *Acroperus harpae* a *Pleuroxus truncatus* (Veselý, 1994). Nejvýznamnější druhy představovaly *Daphnia longispina* a *Heterocope saliens*, které byly nalezeny v hojném počtu ve všech hloubkách (Hellich 1878).

Na tento výzkum navázal A. Černý, který zde v roce 1910 objevil několik nových druhů, při porovnání s prof. Fričem je to pravděpodobně způsobeno intenzivnějším výzkumem. Nalezeny byly tyto druhy: *Daphnia longispina*, *Acroperus harpae*, *Pleuroxus*

*truncatus*, *Alonella excisa*, *Alona affinis* a *Chydorus sphaericus*. Z vírníků se v jezeře vyskytovaly druhy *Keratella testudo*, *K. quadrata*, *Lecane luna*, *Monostyla cornuta*, *Eothinia elongata*, *Euchlanis* sp., *Lepadella patella*. V roce 1960 zde provedl výzkum doc. Hrbáček se svou skupinou, v jezeře byla nalezena pouze buchanka *Cyclops abyssorum*, vznášivka *Heterocope saliens* a perloočka *Acroperus harpae*. Hlavní změnou tedy bylo vymizení dříve hojně perloočky *Daphnia longispina* (Procházková a Blažka, 1999; Kohout, 2001).

V roce 1969 při jediné návštěvě S. Ošmery byly zaznamenány minimální změny zooplanktonu Plešného jezera. Nalezeny byly: pelagický *Cyclops abyssorum* a litorálně-pelagická *Heterocope saliens*. Ošmerův nález *C. abyssorum* byl s ohledem na pozdější a i současné odběry v jezeře zřejmě poslední. Vedle běžných litorálních perlooček *Acroperus harpae* a *Alona guttata* je nově nalezena *Alona rectangula* (Ošmera, 1971).

V roce 1986 bylo Plešné jezero poprvé navštíveno pracovníky oddělení hydrobiologie PřF UK a od roku 1990 je pak zkoumáno pravidelně až do současnosti. Zejména díky aktivitě Hydrobiologického ústavu AVČR pak ze všech jezer asi nejvíce.

V planktonu jsou pravidelně, zřídka však v počtech vyšších než jeden jedinec na litr jezerní vody, loveny: dravá vznášivka *Heterocope saliens*, charakteristická pro vysokohorská jezera, ale u nás poměrně vzácná a běžnější buchanka *Acanthocyclops vernalis*, tyto druhy jsou ale jinak spíše litorální. Rozšíření druhu *Acanthocyclops vernalis* do pelagiálu (*Heterocope* tam byla už dříve) má snad potravní či kompetiční důvod (nepřítomnost původního *Cyclops abyssorum*, který byl naposledy zaznamenán v roce 1969). V litorálu jsou spolu s uvedenými *Heterocope* a *Acanthocyclops* nejpočetnější *Acroperus harpae* a *Alonella excisa*, následované *Alona affinis* a *A. guttata*.

V roce 2004 byly rámci reintrodukčního experimentu do Plešného jezera vysazeny dva zooplanktonní druhy: *C. abyssorum* a *Daphnia longispina*. Buchanka *Cyclops abyssorum* vymizela v Plešném jezeře během vrcholu acidifikace. Nicméně když vzrostla hodnota pH nad 5, byla provedena reitrodukce spolu s dalším vyhubeným druhem *Daphnia longispina*. I když bylo zavedení *D. longispina* neúspěšné, Kohout a Fott (2006) potvrdili úspěšné zavedení *C. abyssorum*, již v následujícím roce byli nalezeni potomci původních vysazených jedinců. Úspěšné zavedení *C. abyssorum* naznačuje, že omezená možnost šíření byla primární faktor, který omezoval rekolonizaci tohoto druhu v Plešném jezeře (Kohout & Fott, 2006).

Ve srovnání s ostatními šumavskými jezery se Plešné jezero vyznačuje jedněmi z nejchudších populací vírníků, což je zarážející, uvažíme-li vyšší trofii jezera (jezero je mezotrofní) a jeho poměrně rozvinutý fytoplankton (Nedbalová a Vrtiška, 2000).

### 1.4.5. Jezero Laka

Jezero Laka je nejmenší a zároveň nejvýše položené šumavské jezero. V roce 1871 jej navštívil profesor Frič a provedl první odběry. Ve vzorcích nebyly zaznamenány žádné pelagické druhy (Veselý, 1994). Bylo zaznamenáno 13 litorálních druhů perlooček, mezi nimiž byly například *Polyphemus pediculus* a *Alonopsis elongata* (Hellich, 1884). Litorální charakter jezera (největší hloubka 3,5 m) podtrhuje nepřítomnost pravých jezerních (pelagických) zástupců jako jsou *Holopedium* či *Bosmina*. V letech 1960 a 1961 jezero navštívili Hrbáček a kol. a v nepublikovaných protokolech uvádí, že síťový plankton prakticky chyběl (Kohout, 2001).

Od roku 1986 se výzkumu zooplanktonu věnovalo hydrobiologické oddělení PřF UK. Bylo možné říci, že jezero se za posledních 130 let příliš nezměnilo, vyjma nepřítomnosti dříve velmi hojné populace pstruhů. Zpozorována byla většina původních litorálních druhů perlooček například *Peracantha truncata*, *Alonopsis elongata*, *Acroperus harpae*, *Eurycercus lamellatus*, *Simocephalus vetulus*, pelagická *Daphnia longispina* a některé další, spolu s několika druhy buchanek, byly zjištěny nově. V roce 1999 byly zaznamenány velice nízké počty korýšů v pelagiálu a pouze v případě nauplií přesáhly počet jednoho jedince na litr. Možné příčiny byly například velká průtočnost jezera, nebo hojná přítomnost dravých larev *Chaoborus sp.*, které se důsledkem vymizení rybí populace staly vrcholovými predátory. Ze všech jezer na Šumavě zde ale v září 1999 největších počtů (a biomasy) dosahovali vířníci, především *Polyarthra remata* a *Polyarthra major*. Hojně se vyskytoval též *Microcodon clavus*. V hojném počtu byly zaznamenány *Synchaeta pectinata* a *Keratella ticinensis*, které byly v ostatních jezerech nepřítomné (Berzinš a Pejler 1987).

### 1.4.6. Roklanské jezero (Rachelsee)

Ve druhém roce výzkumů navštívil profesor Frič Roklanské jezero spolu s Plešným, kolem roku 1873. Druhovú skladbu se jen minimálně lišila od Plešného jezera, také zde bylo dominantní zastoupení *Heterocope saliens*, *Daphnia longispina* a *Cyclops abyssorum*. Hellich (1878) ve své studii jmenuje dále litorální perloočky *Simocephalus vetulus* a *exspinosus*, *Acantholeberis curvirostris*, *Alonella excisa*, *A. nana*, *Peracantha truncata* a *Chydorus sphaericus*.

V roce 1985 byl proveden odběr hydrobiologickým oddělením PřF UK, který potvrdil, že Roklanské jezero vykazuje nejmenší oživení. V 90. letech bylo v pelagiálu nalezeno pouze několik jedinců litorálních perlooček *Acroperus harpae* a *Alonella excisa*, stejně zanedbatelné byly i počty vířníků.

Pravděpodobná příčina minimálního oživení Roklanského jezera může být minimální vzestup hodnoty pH, od 80. let pH stouplo ze 4,5 na 5 jednotek. Koncentrace hliníku jsou nižší než v Čertově a Černém jezeře, ale vyšší než v Prášilském (Schaumburg 2000). Hlavní příčinou budou zřejmě nízké koncentrace celkového fosforu, rozpuštěného organického uhlíku a chlorofylu, což způsobuje, že Roklanské jezero je výrazně více oligotrofní než ostatní jezera (Vrba a kol., 2000).

#### **1.4.7. Velké Javorské jezero (Grosser Arbersee)**

Frič a Hellich provedli odběry ve Velkém Javorském Jezeře roku 1871. Byl zde nalezen největší počet druhů perlooček (16), pravděpodobně díky litorálu, který byl místy hustě zarostlý vodní vegetací. Dominantním druhem byla perloočka *Holopedium gibberum*. Ve středu jezera byly v hloubce kolem 1 m chyceny vedle *Holopedium gibberum* také buchanky druhu *Cyclops abyssorum* a perloočky *Daphnia longispina* a několik jedinců *Ceriodaphnia quadrangula*. Je zvláštní, že tehdy nebyla zjištěna jinak v sedimentech hojná *Bosmina longispina* (Steinberg a kol. 1984). Silně zarostlý břeh v zadní části jezera obývaly perloočky *Eurycercus lamellatus*, *Alonopsis elongata* (velmi hojně), hojně *Peracantha truncata* a *Chydorus sphaericus* (Frič, 1872; Hellich, 1878).

Následujících více než 100 let se zooplanktonu německých jezer nikdo nevěnoval. Teprve až v roce 1985 litorální i pelagiální vzorky odebrali Fott a Stuchlík (nepublikováno) a několik dalších odběrů pochází z 90. let (Fott, Vrba a kol. – nepublikováno). Ve vzorcích z roku 1985 a 1999 se v pelagiálu hojně vyskytovala buchanka *Cyclops abyssorum*, společně s perloočkami *Ceriodaphnia quadrangula* a *Holopedium gibberum*. V litorálu byly stále přítomny *Polyphemus pediculus*, *Ceriodaphnia quadrangula*, *Acroperus harpae* a také *Sida crystallina*. Zejména *Polyphemus* byl v létě 1999 velmi bohatě zastoupen, ze všech jezer nejvíce. V roce 1999 bylo Velké Javorské jezero jen slabě ovlivněno acidifikací, u hladiny bylo naměřeno pH 5,91, což je vyšší hodnota než původně před acidifikací (Vrba et al, 2000; Steinberg et al., 1984).

#### **1.4.8. Malé Javorské jezero (Kleine Arbersee)**

V Malém Javorském jezeře se v minulosti příliš výzkumů neprovedlo. V roce 1872 uskutečnili první odběr Frič a Hellich, kteří odebrali vzorky pouze ze zarostlého břehu. Nalezeno bylo 13 druhů perlooček a buchaneček, které byly již známé z ostatních jezer (Hellich, 1878).

Další odběry byly uskutečněny až v roce 1985 a poté několik dalších v 90. letech hydrobiologickým oddělením PřF UK ve spolupráci s Hydrobiologickým ústavem AVČR.

Díky malé hloubce tohoto jezera a malé ploše pelagiálu se v jezeře nevyskytují typické planktonní druhy korýšů. Častěji jsou ve volné vodě nalézány pouze litorální až litorálně-pelagické perloočky *Ceriodaphnia quadrangula* a *Chydorus sphaericus*, z vířníků pak někdy hojně *Polyarthra remata* a *Polyarthra major*. Zajímavý je výskyt druhu *Chydorus sphaericus*, perloočky, která původně žila ve všech šumavských jezerech, snad kromě Čertova jednoznačně přežila ale jen zde. Tento druh je velmi rozšířený a je schopen prosperovat i silně acidifikovaných tatranských jezerech ( $\text{pH} < 5$ ) (Fott a kol., 1994). V litorálu byli v roce 1999 nejhojnějšími obyvateli *Polyphemus pediculus*, *Sida crystallina* a *Acroperus harpae* (Kohout, 2001).

### 1.5. Ekologie zooplanktonu šumavských jezer

Dominantními zástupci zooplanktonu šumavských jezer jsou zejména perloočky (podřád Cladocera), buchanky (řád Cyclopoida), vznášivky (řád Calanoida) a vířníci (kmen Rotifera).

**Perloočky (Cladocera)** jsou drobní sladkovodní korýši z třídy luppenonožců. Tělo je obklopeno dvouchlopňovou schránkou, která je pravidelně svlékána. Mají dva páry tykadel, první pár slouží jako smyslový orgán a druhý pár slouží k pohybu. Na hrudi je umístěno 6-7 párů končetin, které slouží k získávání potravy. Některé čeledi jsou pelagiální a potravu získávají filtrací (např. Daphnidae a Bosminidae), jiné jsou charakteristické pro litorál (např. Chydoridae) (Šrámek a Hušek, 1962). Perloočky představují důležitou součást sladkovodního zooplanktonu, geograficky jsou rozšířeny téměř po celém světě. Například *Daphnia* je velmi dobrým indikátorem ekologického stavu sladkých vod, protože hraje klíčovou roli v pelagických potravních sítích na mnoha lokalitách, jako klíčový konzument řas a sinic a zároveň důležitá potrava mnoha ryb plní funkci spojovacího článku mezi primární produkcí fytoplanktonu a vyššími trofickými úrovněmi ve volné vodě (Hesthagen et al., 2011).

Perloočky se rozmnožují prostřednictvím cyklické partenogeneze, což je střídání pohlavního a nepohlavního rozmnožování v průběhu sezóny. Většinu času se rozmnožuje klonálně a za nepříznivých okolních podmínek přechází k pohlavnímu rozmnožování. V tomto případě začnou samice vytvářet pohlavní vajíčka a samci jsou vytvářeni partenogeneticky. Po oplodnění jsou obvykle dvě vajíčka zapouzdřena v ochranné chitinózní schránce zvané efípium. Efípie vstoupí do stádia diapauzy a následně se z nich líhnou samičí jedinci (Zaffagnini 1987). Produkce těchto rezistentních vajíček má přímý dopad na evoluci a ekologii populace *Daphnia*. Část vajíček se může líhnout již následující sezónu, kdy budou obnoveny příznivé podmínky a zbytek zajišťuje rozptýlení populace v prostoru a čase.



Efipia pohřbená v jezerních sedimentech představují vaječnou banku a současně i rezervoár genetické variability. Životaschopnost těchto vajíček je velmi dlouhá, úspěšné vylíhnutí bylo zaznamenáno i u vajíčka staršího více než 100 let (Cáceres, 1998). Vzhledem k nízké dostupnosti líhnoucích stimulů a snížené schopnosti reakce starších vajíček je ale jejich šance na líhnutí výrazně nižší. Z jezerních sedimentů se dá nicméně vyčíst mnoho informací o historickém vývoji prostředí, v němž perloočky žily. Genetická analýza a experimenty s vylíhnutými efipii umožnily rekonstruovat desítky let trvající evoluční odpovědi na různé faktory: znečištění lidskou činností, vysazení ryb nebo křížení s epůvodním druhem (Seda and Petrusek, 2011).

Některé druhy perlooček jsou vázány na specifický typ prostředí, ale některé mají naopak širokou ekologickou valenci (Hebert a Hann, 1986). Perloočky jsou značně ovlivněny jinými organismy, protože jsou důležitou součástí potravních sítí. Mohou být ovlivněny množstvím predátorů i množstvím a kvalitou fytoplanktonu. Pro vztahy v potravních řetězcích tak mohou být skvělými indikátory (Smol a kol., 2001).

Chemické a fyzikálně-chemické faktory, jako jsou pH, alkalita, iontové složení a obsah rozpuštěného organického uhlíku jsou úzce spjaty s druhovou diverzitou perlooček (Brett, 1989). Alkalita a hodnota pH ovlivňují osmoregulaci korýšů, a vysoká koncentrace  $H^+$  iontů působí toxicky. Rozpuštěný organický uhlík se vyskytuje ve formě huminových kyselin a fulvokyselin, které vodu přirozeně zabarvují do hněda, při snížení koncentrace proniká UV-B záření do větších hloubek, některé druhy se adaptují (například změnou barvy), ale u některých to vede ke změnám habitatů a diurnální migrace (Cooke a kol., 2006).



Obrázek 4: *Daphnia*

Zdroj: <http://www.oocities.org/>

Díky svým mnoha vlastnostem jsou skvělým modelovým organismem. Velikost jejich těla (několik mm) je dostatečně velká pro individuální zpracování, ale i dostatečně malá pro velké experimenty. Kultury perlooček se snadno udržují v laboratorních podmínkách jako klonální linie, mají krátkou generační dobu, proto mohou být velké populace vytvořeny v pravidelných intervalech a rychle reagovat na změny životního prostředí (Seda a Petrusek, 2011).

*Daphnia* vytváří trvanlivá rezistentní vajíčka, která jsou konzervovaná v jezerních sedimentech a jsou odolná vůči různým faktorům životního prostředí (Pollard et al., 2003). Jde o velmi úspěšnou strategii, jak v proměnlivém prostředí přežít nepříznivé podmínky a efektivně využít dostupných potravních zdrojů v období příznivém. Pro vědecké experimenty je pak nedocenitelné, že je velmi snadné namnožit velké množství geneticky identických jedinců. Na nich lze např. testovat působení různých faktorů prostředí, aniž by pokus ovlivňovala genetická variabilita uvnitř testovaného vzorku. To je jeden z důvodů, proč se perloočky staly oblíbeným modelem v ekotoxikologii (Seda a Petrusek, 2011).

**Buchanky (Cyclopoida)** jsou pelagičtí a litorální koryši. Mají protáhlé tělo s pěti páry dvouvětevých končetin, hlava s antenulami srůstá s ostatními hrudními články v hlavohrud', zbylé články jsou volné. Abdomen je zakončen furkou, která je pokryta různě dlouhými brvami. Buchanky jsou odděleného pohlaví, samičky mají 2 vaječné váčky (Smrž, 2013). Buchanky patří k významným bezobratlým predátorům ve vodních nádržích. Jejich hlavní složkou potravy jsou různé druhy zooplanktonu včetně vířníků. Naupliová stádia buchanek se živí převážně řasami, bakteriemi, prvoky a detritem, zatímco dospělci a starší kopepoditová stádia loví různé druhy vířníků a drobných koryšů (Plaßmann a kol., 1997; Williamson, 1983).

Typickým zástupcem šumavských jezer je buchanka *Cyclops abyssorum*, která se vyskytuje v hypolimniu jezer s neutrálním až mírně kyselým pH (pH 5-6,5). Dospělí jedinci dosahují velikosti 2-3 mm a jejich antenuly dosahují maximálně 2/3 délky těla, čímž se dají dobře rozpoznat od vznášivek. *Cyclops abyssorum* má jednu až dvě generace do roka, které nejsou synchronizované, v průběhu roku tedy můžeme v jezerech sledovat všechna jejich vývojová stádia (Nilssen a Wærvågen, 2003).

**Vznášivky (Calanoida)** jsou pelagičtí koryši. Většina zástupců potravu získává filtrací. Mají protáhlé tělo, na hlavě je pár antenul, které jsou dlouhé jako tělo, hlava srůstá s ostatními hrudními články a tvoří hlavohrud', na které je umístěno pět párů dvouvětevých končetin. Abdomen je ukončen furkou, která je souměrná a pokryta vějířovitě uspořádanými brvami. Tělo není kryto skořápkou, jako je tomu u perlooček. U vznášivek je vyvinut pohlavní dimorfismus, jsou odděleného pohlaví. Oplodněné samičky nosí na rozdíl od buchanek pouze jeden vaječný váček (Smrž, 2013).

Typickým zástupcem šumavských jezer je vznášivka *Hetercope saliens*. Je to planktonní koryš, dosahující velikosti až 3,2 mm. Tato vznášivka je považována za acidotolerantní, protože se často vyskytuje v silně okyselených jezerech, jejichž pH dosahuje i

méně než hodnoty 5,5, právě díky své toleranci k nízkému pH přežila tato vznášivka acidifikaci v Plešném jezeře. *Heterocope saliens* se živí drobným nanoplanktonem, který neselektivně filtruje, a lovem malých druhů perlooček a vířníků. Tato vznášivka může mít velký vliv na druhové složení společenstva, zejména v jezerech, kde nejsou ryby. V Plešném jezeře může výrazně ovlivňovat populaci buchanky *Cyclops abyssorum*, protože loví její naupliová stádia. Tento druh má pouze jednu generaci do roka, která je synchronizovaná, takže v určitém období nalezneme v jezeře pouze stejně stará stádia (Larsson, 1987).

**Vířníci (Rotatoria)** jsou planktonní a bentické organismy, které žijí ve sladkovodních ekosystémech a vlhkých mechových porostech. Vířníci jsou důležitou součástí planktonu. Jsou to gonochoristé se silným sklonem k partenogenezi, samci jsou výrazně menší než samice. U některých vířníků se setkáváme s heterogonií, střídání generací s haploidními vajíčky a partenogenetických generací s diploidními vajíčky. Dominantním znakem vířníků je zatažitelný vířivý aparát na přední části těla, tvořený dvěma věnci brv, které neustálým kmitavým pohybem přihání potravu k ústnímu otvoru. Slouží také k pohybu. Nepříznivé podmínky mohou přežít v anabióze či v stádiu rezistentních vajíček (Smrž, 2013).

## 2. Cíle diplomové práce

- 1) Získání dat o druhovém složení a abundanci planktonních korýšů v letech 2012-2016. Tato data následně porovnat mezi jezery navzájem a s dřívějšími záznamy s cílem najít případné změny a zejména posoudit, jak pokračuje zotavení („recovery“) zooplanktonu šumavských jezer.
- 2) Pomocí genetických markerů stanovit, odkud pochází *Daphnia longispina*, která se nyní ve velmi početně omezené populaci v Plešném jezeře nachází.
  - zda se jedná o populaci z repatriačního pokusu, která přežila pouze ve formě trvalých vajíček, nebo zda se jedná o populaci založenou z inokula přineseného vodním ptactvem z okolí Lipenské nádrže.

### 3. Materiál a metody

#### Odběr vzorků

Planktonní vzorky byly odebrány během let 2012 až 2016 koncem letního období (srpen/září), toto období bylo zvoleno, protože nejlépe reprezentuje diverzitu planktonu v období letní stagnace. Vzorky ze všech osmi jezer jsou sbírány vždy v rámci tzv. odběrových kampaní ve čtyřletém intervalu, v mnou sledovaném období to tedy bylo v roce 2015. V ostatních letech jsou odebírány vzorky pouze jezer, u nichž očekáváme nějaké změny v chemismu nebo oživení. Přehled odběrů je zaznamenán v tabulce č. 1.

Tabulka 1: Termíny odběrů zooplanktonních vzorků (2012-2016)

Jezero/rok	2012	2013	2014	2015	2016
CN	25. 7. 2012	16. 9. 2013	18. 8. 2014	7. 9. 2015	x
CT	x	x	18. 8. 2014	7. 9. 2015	x
RA	x	x	3. 9. 2014	4. 9. 2015	25. 8. 2016
PL	x	x	x	7. 9. 2015	x
KA	x	x	x	2. 9. 2015	x
PR	3. 9. 2012	x	19. 8. 2014	31. 8. 2015	x
GA	x	x	x	2. 9. 2015	x
LA	x	x	18. 8. 2014	31. 8. 2015	x

Voda a planktonní vzorky byly odebírány vždy na nejhlubším místě jezera. Vzorky pro chemické analýzy byly odebrány z epilimnionu (hloubka 0,5m) a okamžitě filtrovány přes polyamidové síto s hustotou ok 200  $\mu\text{m}$ .

Zooplankton byl odebírán ve dvou frakcích: malý síťový zooplankton (ZOOS) a velký síťový zooplankton (ZOOL). Já jsem zpracovávala velký síťový zooplankton, který se odebíral planktonní sítí SIGI 200 s Apsteinovým nástavcem o hustotě ok 200  $\mu\text{m}$ , a to vždy vertikálními tahy ode dna k hladině lodi zakotvené nad nejhlubším místem jezera. Průměr vstupního otvoru nástavce sítě byl 39 cm, sítě byly opatřeny výpustním kohoutem a kalibrovanou šňůrou. Odebraný zooplankton byl fixován 40% formaldehydem k výsledné přibližně 4% koncentraci v 100 ml PET lahvičkách.

#### Analýza zooplanktonních vzorků

Zooplanktonní vzorky byly zpracovány v mikroskopické laboratoři katedry ekologie PřF UK. Pro určování a počítání organismů jsem používala počítač komůrky Utermöhlůva typu a inverzní mikroskop Nikon Diaphot 200. Při determinaci perlooček jsem pracovala

s klíčem Šrámk – Huška a kol. (1962) a klanonožce podle Šrámk – Huška (1953). Velmi nápomocní s determinací mi byli též má školitelka V. Sacherová a konzultant J. Fott.

Pro zjištění abundance organismů jsem vždy celý kvantitativní vzorek převedla do počítací komůrky. Obsah lahvičky tak byl přefiltrován přes síto o velikosti ok 40 µm, vzorek byl ještě několikrát propláchnut, aby byl odstraněn přebytný formaldehyd. Vzorek byl dále převeden do širokohrdlé baňky s kulatým dnem do objemu 100 nebo 280ml (dle počtu jedinců). Obsah baňky jsem doplnila destilovanou vodou po rysku a důkladně promíchala, požadované podíly (5-10ml) jsem nabrala automatickou pipetou se špičkou s odstřiženým koncem. Zpravidla bylo možno spočítat vzorek celý (t.j. při počtech zhruba do tisíce jedinců), občas však dominantní druhy dosáhly vysoké abundance a počítala jsem pouze definovaný podíl.

Po skončení počítání jsem vzorek převedla do PET lahvičky a nafixovala etanolem. Abych zabránila kontaminaci, vždy před zpracováním dalšího vzorku jsem všechny nástroje důkladně omyla destilovanou vodou. Zjištěné abundance jsou vyjádřeny v počtech jedinců na litr (ind/l). V případě výskytu korýšů ve frakci ZOOS, byly výsledné abundance přičteny k celkové abundanci spočítané ze vzorků ZOOL.

### **Genetická variabilita populací *Daphnia longispina* na Šumavě**

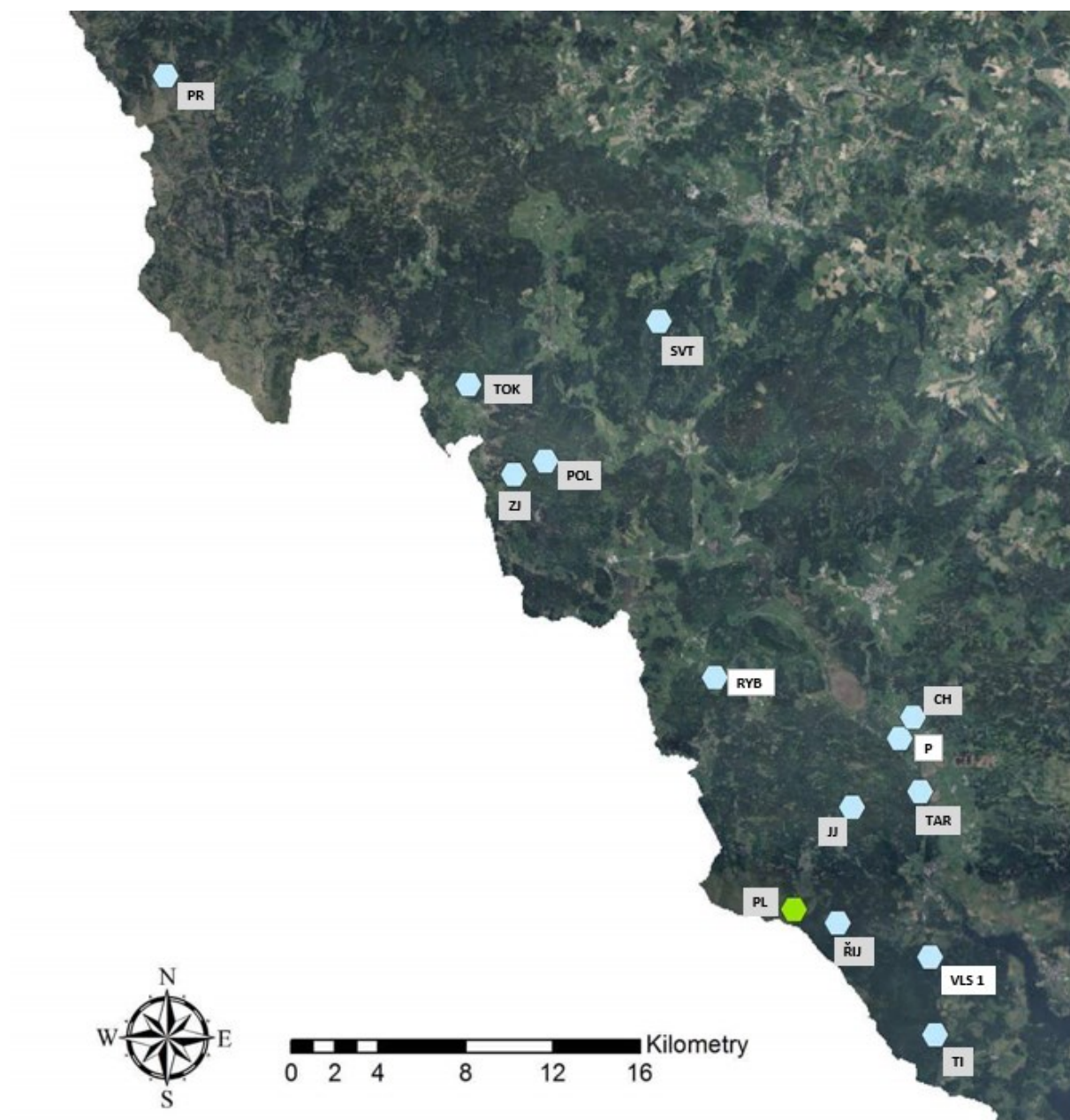
#### **Lokalita a odběr vzorku**

V červnu roku 2016 byly v Prášílském jezeře a lokalitách poblíž Plešného jezera (viz. Tabulka č. 2) odebrány vzorky zooplanktonu. Byly vybrány lokality, které mohly být potenciálním zdrojem populace perlooček rodu *Daphnia*.

Tabulka 2: Místa odběru *D. longispina*

Název	Zkratka	GPS	Datum odběru
Nádrž u Tokaniště	TOK	N 48°58.15542', E 13°36.97302'	22. 6. 2016
Žďárecké jezírko	ZJ	N 48°56.11787', E 13°39.16942'	22. 6. 2016
Polecká nádrž	POL	N 48°56.58215', E 13°40.28178'	22. 6. 2016
Rybniček	RYB	N 48°51.92298', E 13°47.73683'	22. 6. 2016
Pěkná - tůň	P	N 48°51.10383', E 13°54.93977'	22. 6. 2016
Červený taras - tůň	TAR	N 48°49.89820', E 13°55.98012'	22. 6. 2016
Chlumský rybník	CH	N 48°51.67265', E 13°55.31160'	23. 6. 2016
Jelení jezírko	JJ	N 48°49.27215', E 13°53.52525'	23. 6. 2016
Plešné jezero	PL	N 48°46.60417', E 13°51.94232'	23. 6. 2016
Říjiště	ŘIJ	N 48°46.41157', E 13°53.59928'	23. 6. 2016
Tišina	TI	N 48°44.04803', E 13°57.81957'	23. 6. 2016
Světlohorská nádrž	SVT	N 49°0.38578', E 13°43.72382'	23. 6. 2016
Prášílské jezero	PR	N 49°4.52202', E 13°24.00893'	24. 6. 2016

U těchto kvalitativních vzorků byla určena druhová skladba. Prášilské jezero bylo zvoleno, protože v roce 2002 byl proveden reintrodukční pokus o znovuzavedení *D. longispina* do Plešného jezera. Kvalitativní vzorky zooplanktonu byly odebrány planktonní sítí s velikostí ok 200  $\mu\text{m}$  a následně fixovány 96% etanolem.



Obrázek 5: Vodní plochy, kde byly provedeny odběry pro analýzu DNA *Daphnia longispina*

### **Zpracování vzorků**

Z jednotlivých lokalit bylo pro analýzu DNA vybráno 5 – 10 celých jedinců fixovaných v 96% etanolu. Vzhledem k fixaci vzorků v etanolu byli fixovaní jedinci *Daphnia* převedeni na dobu 1 hodiny do destilované vody, aby došlo k vyplavení etanolu, který by

mohl snižovat účinnost následné izolace DNA. Poté byli jedinci přendáni do samostatných mikrozkušavek s 50 µl roztoku proteinázy K.

Samotná izolace probíhala v heatblocku po dobu 12h při teplotě 57°C (optimální teplota pro činnost proteinázy K) (Schwenk et al., 1998). Po uplynutí této doby byly vzorky denaturovány při teplotě 95°C po dobu 10 minut v heatblocku a poté skladovány v chladničce při teplotě 4°C.

Pro amplifikaci jsme zvolili mitochondriální gen 12S srRNA s přibližnou délkou 600bp. Reakční směs byla připravena v celkovém objemu 25 µl a měla následující složení: 8,5 µl přečištěné destilované vody, 12,5 µl Master Mix, 1 µl primer 12S-A, 1 µl primer 12S-B a 2 µl extrahované DNA. Použité primery měly následující sekvence 12S rDNA: 12S-F (ATGCACTTTCCAGTACATCTAC) a 12S-R (AAATCGTGCCAGCCGTCGC) (Taylor, Hebert & Colbourne, 1996). PCR reakce probíhala v mikrozkušavkách o objemu 0,20 ml v termocykleru iCycler Thermal Cycler (BIO-RAD). Použitý byl protokol s následujícím programem: 1x (3min – 94°C), 40x (45s - 94°C, 45s – 53°C, 45s – 72°C), 5min – 72°C.

Úspěšnost PCR reakce byla zjištěna horizontální elektroforézou v roztoku s TBE pufrém na 1,5% agarózovém gelu s 2 µl GelRed. Elektroforéza probíhala 25 minut pod napětím 180 V a proudem 500 mA. Na gel se nanášely 2 µl PCR produktu. Délka amplifikovaných fragmentů byla porovnána se standardem Mass Ruler DNA Ladder (100 bp), Low Range. Po zviditelnění fragmentů v UV světle byl pořízen digitální snímek.

Vzorky určené pro sekvenaci byly zaslané a sekvenované v Laboratoři sekvenace DNA, BIOCEV, nebo v laboratoři Macrogen. Sekvence z laboratoře dodané ve formátu \*.ab1 byly manuálně zkontrolované a zarovnané v programu BioEdit 7.2.6. V tomto programu byl sestaven alignment všech sekvencí pro další analýzu.

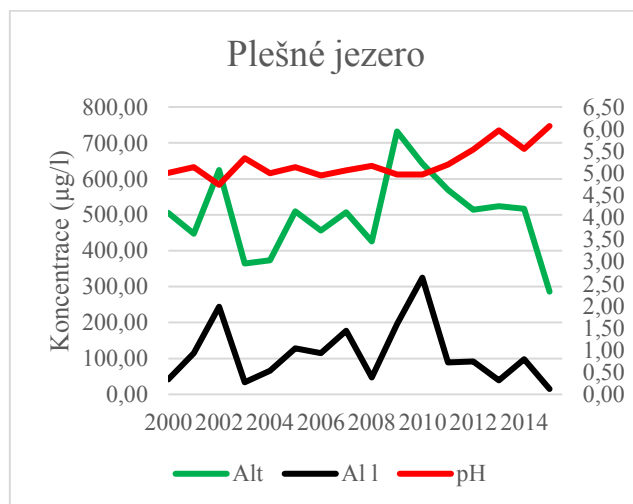
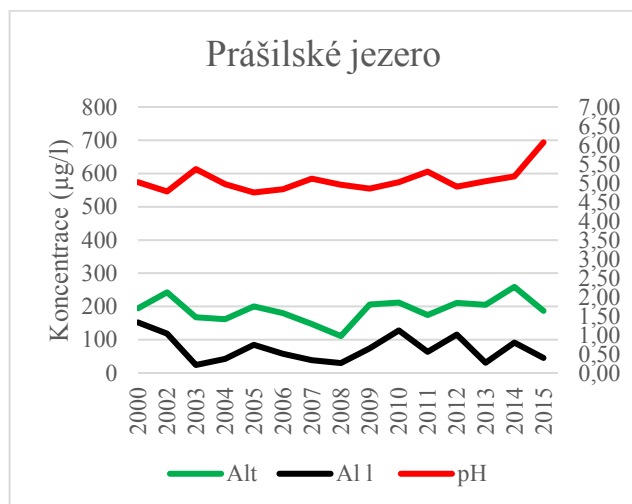
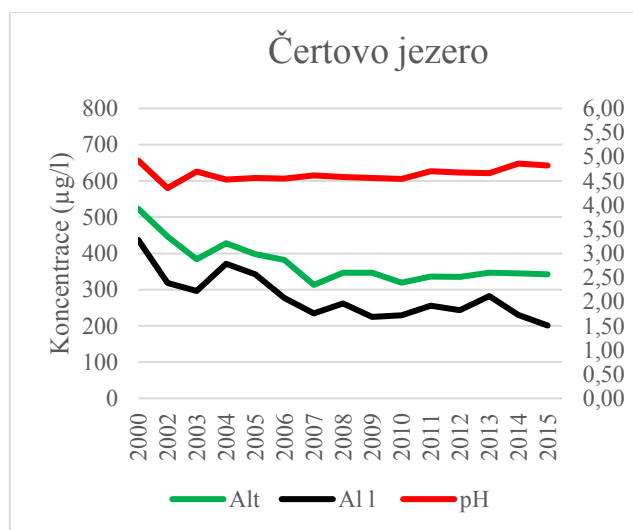
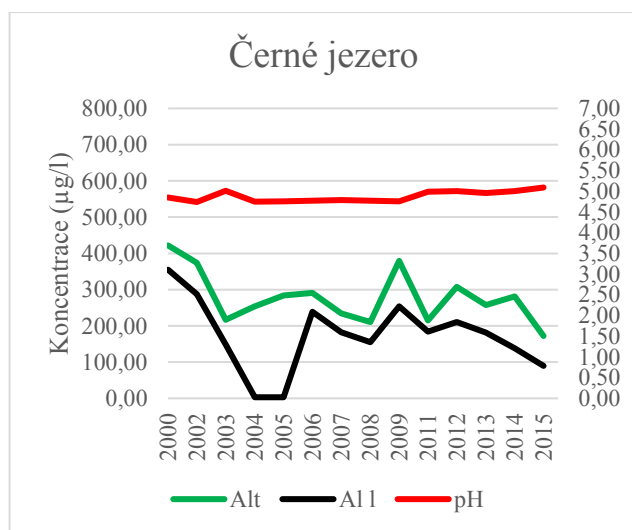
Pro vizualizaci rozdílů mezi populacemi *D. longispina* byla sestavena haplotypová síť. Síť byla vypočítána metodou Maximum Parsimony v programu TCS 1.2.1 (Clement et al., 2000) a následně tcsBU (Múrias dos Santos et al., 2016). Pro přeformátování dat za účelem jejich přenosu mezi výše uvedenými programy byl použit online konvertor ALTER (Glez-Peña et al., 2010).

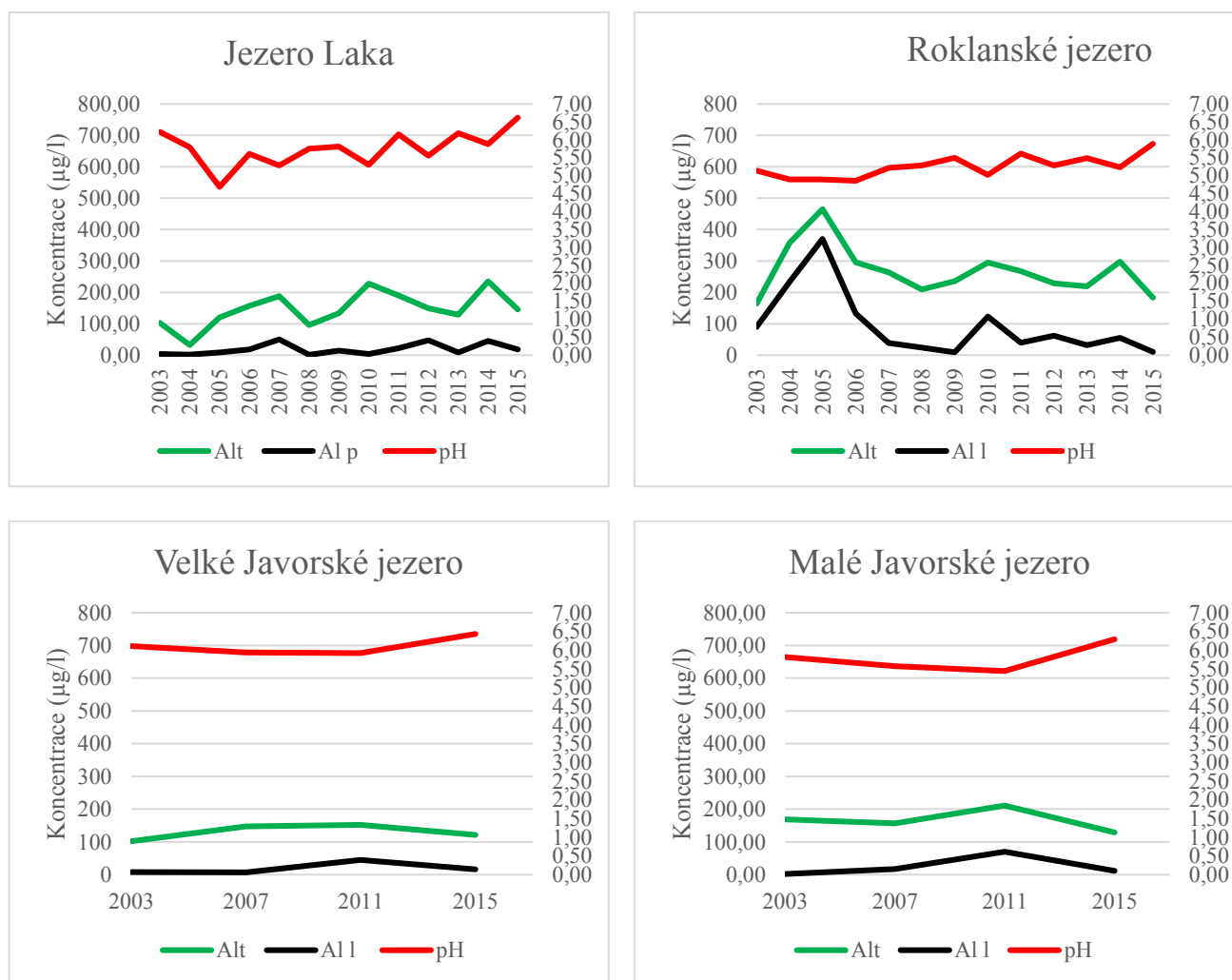


## 4. Výsledky

### Zotavení šumavských jezer

Obrázky 6-13 znázorňují trendy vývoje pH a koncentrace celkového hliníku ( $Al_t$ ) a labilního hliníku ( $Al_l$ ). V průběhu sledovaného období došlo u všech jezer ke vzrůstu pH i koncentrací labilního hliníku. Uvedeny jsou vždy hodnoty z letního období (srpen – září), kdy byly odebrány též zooplanktonní vzorky. (Data pro období 1999-2011 – Vrba et al., 2016; 2012-2016 – J. Kopáček a J. Vrba, nepublikovaná data.)





Obrázek 6: Trendy vývoje pH a koncentrace hliníku v šumavských jezerech

## Zooplankton

V šumavských jezerech bylo v letech 1999-2016 v litorálu a pelagiálu nalezeno celkem 27 druhů koryšů. Jejich přítomnost v jednotlivých jezerech je zaznamenána v příloze v tabulce č. P6, kde je též rozlišení na skupiny pelagické, litorální a litorálně-pelagické. Za litorálně-pelagické jsou označovány druhy, které nejsou striktně vázány na jedno prostředí. Primárně se živočich může nalézat v litorálu, ale za vhodných podmínek se může rozšířit do volné vody. Dobrým příkladem je například *Ceriodaphnia quadrangula*, která byla dominantní složkou litorálu Černého jezera, po vymření perlooček *Bosmina longispina* a *Daphnia longispina* se však rozšířila do pelagiálu.

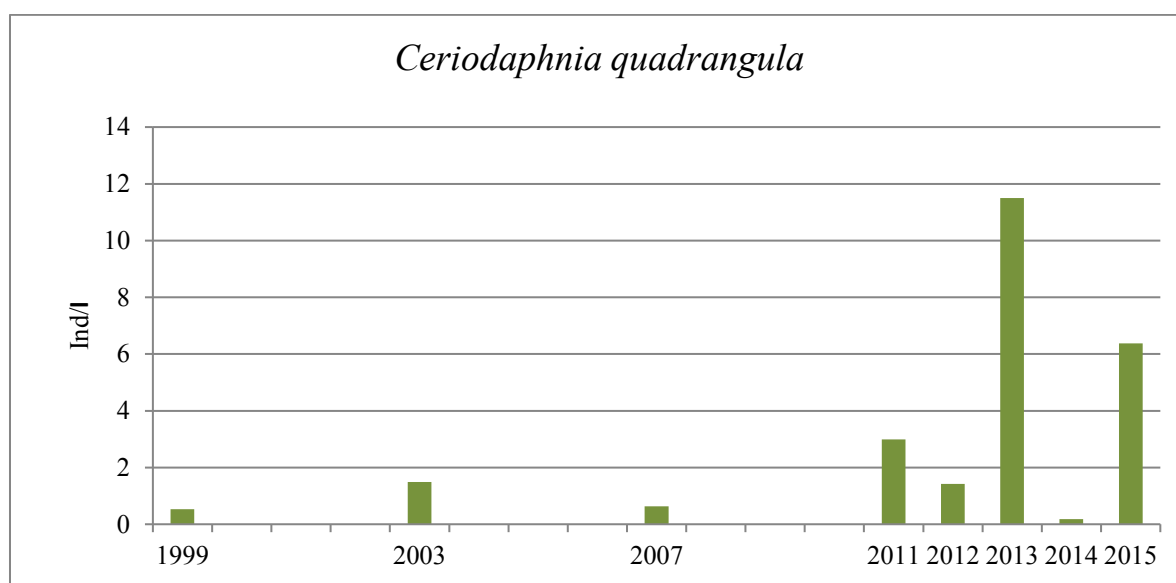
Nejvíce druhů koryšů bylo nalezeno v jezeře Laka (20) a Malém Javorském jezeře (17). Následovaly Velké Javorské jezero se 14 druhy, Roklanské jezero se 12 a Prácheňské jezero s jedenácti druhy. Druhově chudší bylo Plešné jezero s 8 druhy a Černé jezero s 9

druhy. Zcela nejchudší druhovou skladbu jsem zaznamenala v Čertově jezeře s pouhými 6 druhy planktonních koryšů. Tabulky s celkovými abundancemi P7-P14 jsou umístěny v příloze.

Detailně se nyní zaměřím na zooplankton jednotlivých jezer odděleně. Hodnotit budu výsledky identifikace a počítání velkého síťového zooplanktonu (ZOOL), které jsem zpracovávala. Grafy jsem u jednotlivých jezer sestavila pro dominantní druhy a dala je do kontextu s daty z let 1999-2011, které publikoval Vrba et al., 2016.

### **Černé jezero**

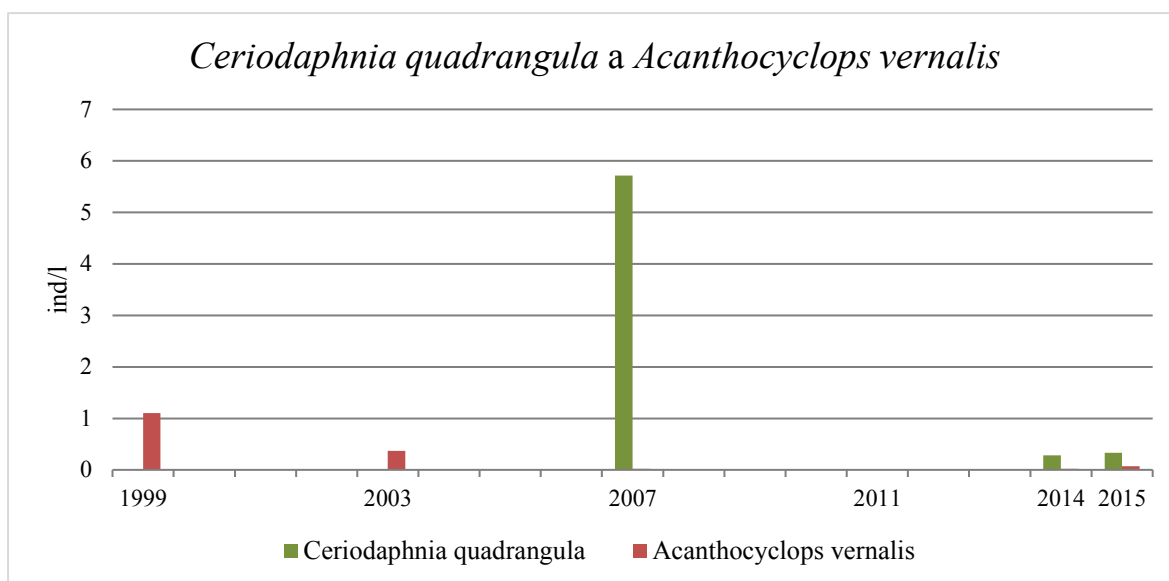
Ve vzorcích z roku 2012, 2013, 2014 a 2015 byl přítomen pouze jediný druh, a to *Ceriodaphnia quadrangula*. Obrázek č. 7 znázorňuje vývoj populace *C. quadrangula* v období 1999-2015. Počáteční vývoj druhu je exponenciální, výskyt tohoto druhu vykazuje výrazné meziroční změny. Nejvyšší abundance byly zaznamenány ve vzorcích ZOOL z roku 2013 více než 11 ind/l a naopak nejnižší byly v roce 2014 (méně než jeden jedinec na litr).



Obrázek 7: Vývoj početnosti perloočky *Ceriodaphnia quadrangula* v Černém jezeře v období 1999-2015

### **Čertovo jezero**

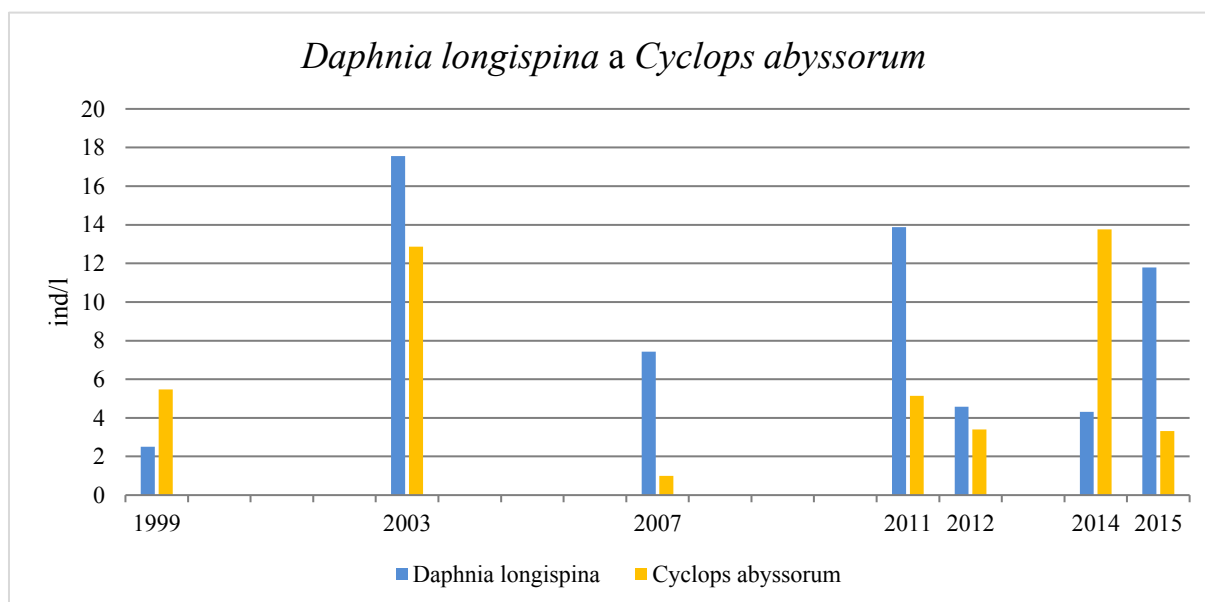
Ve vzorcích z let 2014 a 2015 byly v Čertově jezeře zaznamenány pouze dva druhy, *Ceriodaphnia quadrangula* a *Acanthocyclops vernalis*, jejichž počty byly nižší než 1 ind/l. Obrázek č. 8 znázorňuje vývoj jejich početnosti v období od roku 1999 do roku 2015.



Obrázek 8: Vývoj početnosti perloočky *Ceriodaphnia quadrangula* a buchanky *Acanthocyclops vernalis* v Čertově jezeře v období 1999-2015

### Prášilské jezero

Ve vzorcích Plešného jezera ve všech odběrech (2012, 2014 a 2015) jednoznačně dominovala perloočka *D. longispina* a buchanka *C. abyssorum*. Nejvyšší abundance *C. abyssorum* jsem zaznamenala ve vzorcích ZOOL v roce 2014, kdy jeho počty dosahovaly více než 13 ind/l. Ve všech vzorcích byla též zaznamenána kopepoditová i naupliová stádia. Trendy vývoje jejich populací od roku 1999 do roku 2015 znázorňuje obrázek č. 9.

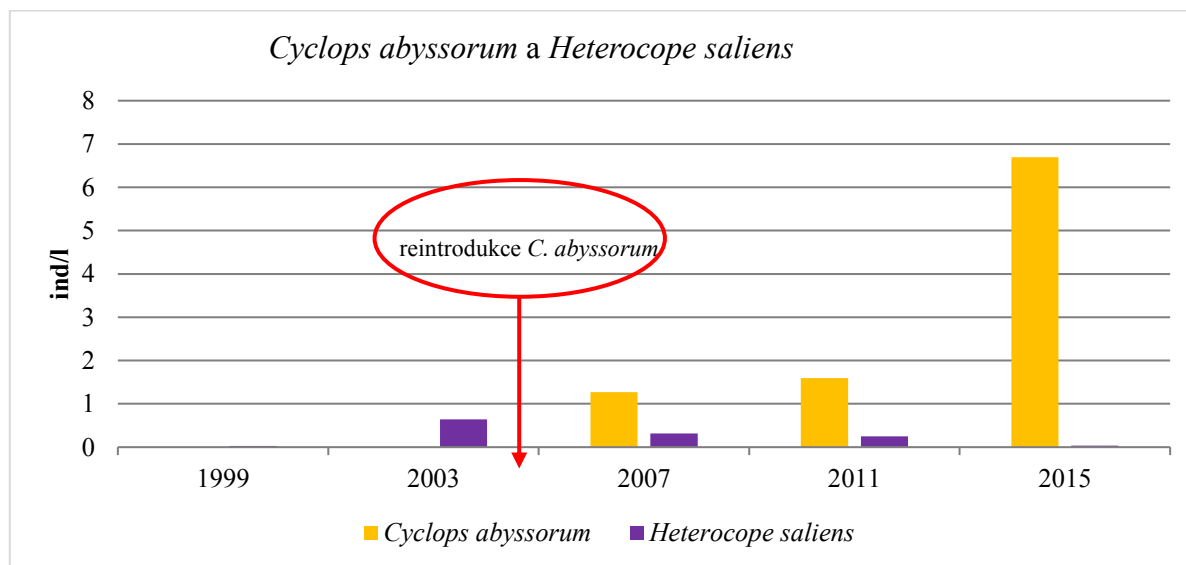


Obrázek 9: Vývoj početnosti perloočky *Daphnia longispina* a buchanky *Cyclops abyssorum* v Prášilském jezeře v období 1999-2015

### Plešné jezero

Dominantní složkou zooplanktonu v roce 2015 byla jednoznačně buchanka *Cyclops abyssorum* (7 ind/l) a její vývojová stádia, v relativně početném zastoupení jsem zaznamenala též vznášivku *Heterocope saliens*, její početnost nepřesahovala 1 ind/l.

Přítomno bylo též několik jedinců *Acroperus harpae* a *Alona affinis*. Obr. č.10 znázorňuje vývoj populací *H. saliens* a *C. abyssorum* v období 1999-2015. Červenou šipkou je označeno období reintrodukčního experimentu, který provedl Fott v roce 2004.



Obrázek 10: Vývoj početnosti buchanky *Cyclops abyssorum* a vznášivky *Heterocope saliens* v Plešném jezeře v období 1999-2015

### Jezero Laka

Zooplankton jezera Laka byl početně velice chudý, početnosti nalezených korýšů nikdy nepřesáhly hodnotu 1 ind/l. V téměř všech vzorcích byly nalezeny dravé larvy koreter (*Chaoborus Sp.*). Převážně jsem zaznamenala litorální druhy perlooček. Zooplankton jezera Laka byl početně velice chudý, početnosti nalezených korýšů nikdy nepřesáhly hodnotu 1 ind/l. V téměř všech vzorcích byly nalezeny dravé larvy koreter (*Chaoborus Sp.*). Převážně jsme zaznamenala litorální druhy perlooček. Ve vzorcích z roku 2014 bylo nalezeno několik jedinců *Holopedium gibberum*. Ve všech odběrech byla přítomna též litorálně-pelagická perloočka *Ceriodaphnia quadrangula*, nejvyšší abundance dosahovala v roce 2014 (1 ind/l). Ve všech odběrech byla též zaznamenána buchanka *Acanthocyclops vernalis* nebo její naupliová a kopepoditová stádia.

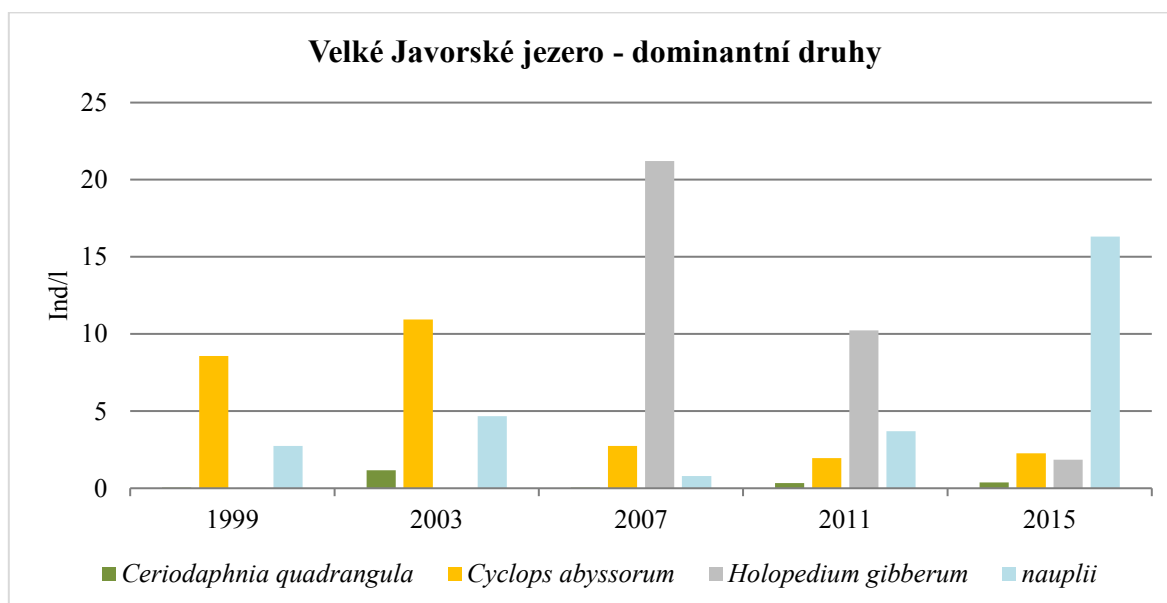
### Roklanské jezero

U téměř všech odběrů z Roklanského jezera bylo zpravidla možné spočítat vždy celý vzorek, protože abundance i počet druhů v jednotlivých odběrech kampaní byly velice nízké.

Ve vzorcích z roku 2014 a 2015 byly nalezeny pouze tři druhy, a to *Alona affinis*, *Ceriodaphnia quadrangula* a *Acantocyclops vernalis*. V roce 2016 bylo navíc zaznamenáno několik jedinců litorálních perlooček *Acroperus harpae* a *Chydorus sphaericus*.

### Velké Javorské jezero (Grosser Arbersee)

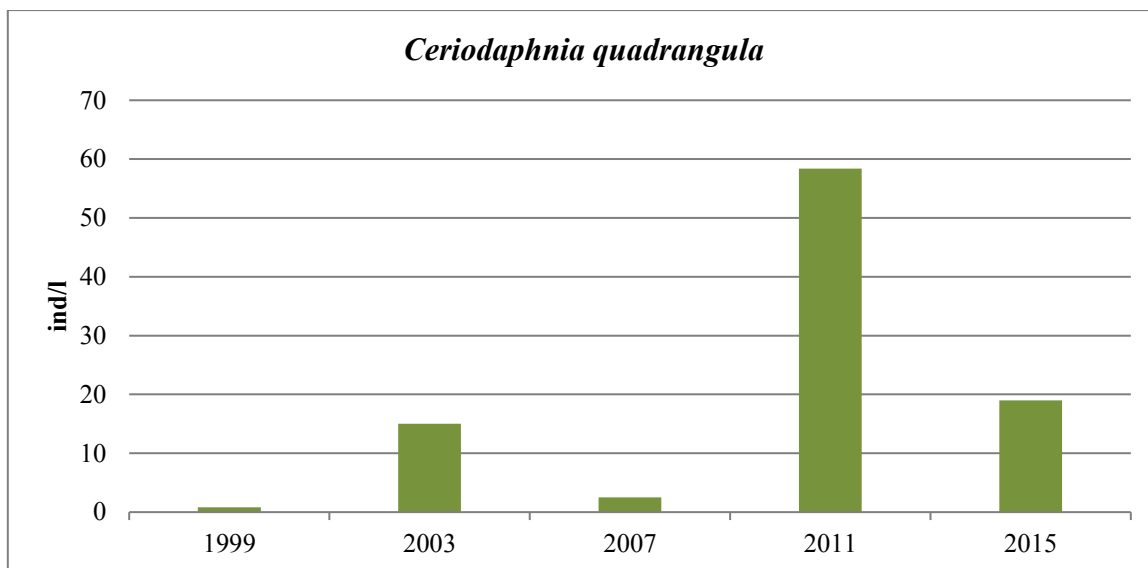
Ve Velkém Javorském jezeře v roce 2015 jednoznačně dominovala buchanka *Cyclops abyssorum* a její naupliová stádia. V hojném počtu jsem zaznamenala pelagickou perloočku *Holopedium gibberum* a litorální druh *Chydorus sphaericus*. Obrázek č. 12 znázorňuje vývoj dominantních druhů v období 1999-2015.



Obrázek 11: Vývoj početnosti dominantních druhů ve Velkém Javorském jezeře v období 1999-2015

### **Malé Javorské jezero (Kleine Arbersee)**

V zooplanktonu v srpnu 2015 dominovala *Ceriodaphnia quadrangula* (Obr. 13) s počtem skoro 19 ind/l, ve vyšším počtu jsem zaznamenala též naupliová stádia copepoda a v počtu 4 ind/l. Ve velmi nízké početnosti jsem zaznamenala perloočky *Pleuroxus truncatus*, *Polyphemus pediculus*, *Sida crystallina* a buchanku *Cyclops abyssorum* a její vývojová stádia.



Obrázek 12: Vývoj početnosti perloočky *Ceriodaphnia quadrangula* v Malém Javorském jezeře v období 1999-2015

### Druhov skladba na lokalitách v okolí Plešného jezera

Ve vodních útvarech v okolí Plešného jezera byly nalezeny následující druhy:

Tabulka 3: Výskyt druhů zooplanktonu v okolí Plešného jezera

Druh/zdroj	TOK	ZJ	POL	RYB	P	TAR	CH	JJ	PL	RIJ	TI	SVT	PR
<i>Acroperus harpae</i>							X	X	X				X
<i>Alona affinis</i>	X	X							X	X		X	
<i>Alonella excisa</i>		X							X	X		X	
<i>Bosmina longirostris</i>		X		X								X	
<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	X		X	X		X				X	X		
<b><i>Daphnia longispina</i></b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>					<b>X</b>	<b>X</b>
<i>Daphnia pulex</i>					X								
<i>Eurycercus lamellatus</i>	X							X					
<i>Graptoleberis testudinaria</i>												X	
<i>Holopedium gibberum</i>	X	X										X	
<i>Chydorus sphaericus</i>												X	
<i>Pleuroxus truncatus</i>		X								X			
<i>Polyphemus pediculus</i>									X				X
<i>Simocephalus vetulus</i>										X			
<i>Acanthocyclops vernalis</i>										X			
<b><i>Kopepoditová stádia</i></b>	X	X	X	X	X	X		X	X				
<i>Cyclops abyssorum</i>			X			X			X				X
<i>Hetercope saliens</i>						X			X	X			

V ppad pitomnosti perloocky *D. longispina* byly odebrány vzorky pro analýzu DNA, pro uren jejich genetické variability viz. fylogenetická analýza.



## Analýza DNA

Z 35 jedinců *D. longispina* pocházejících z celkem 9 vodních ploch v okolí Plešného jezera byla získána sekvence genu 12S rDNA o délce 522 až 524 párů bází. Na základě těchto dat byla vytvořena haplotypová mapa *D. longispina*.

Tabulka 4: Přehled vzorků pro sekvenaci

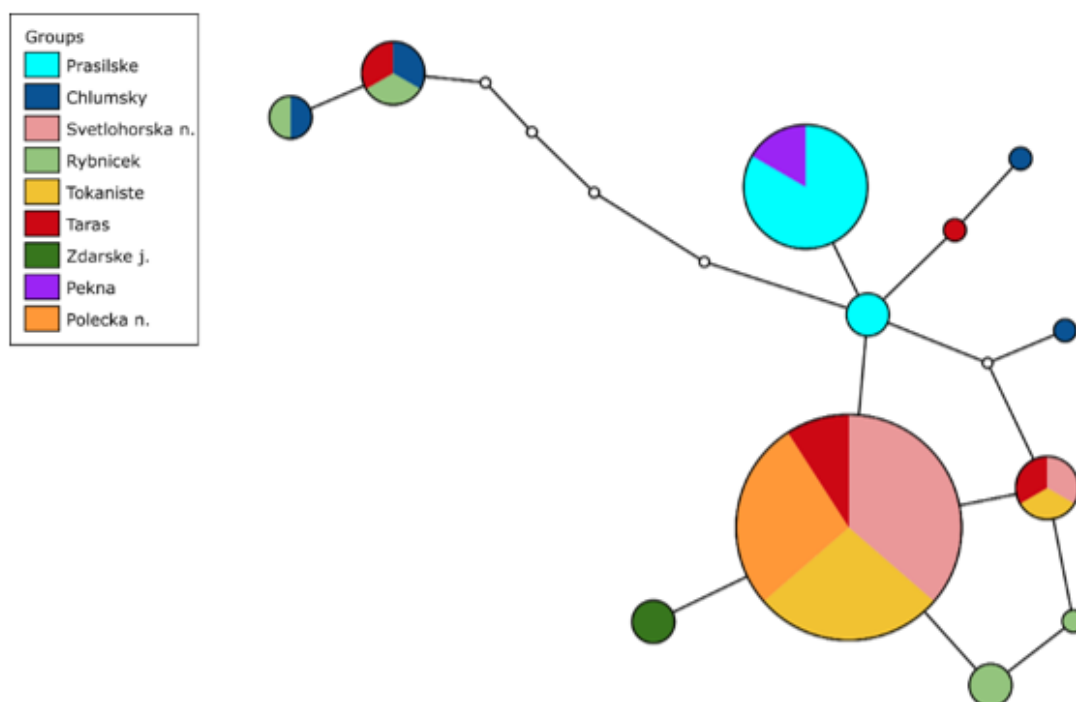
Pořadové číslo	Název	Počet sekvencí <i>D. longispina</i> / jedinec č.	Počet klonů
1.	Nádrž u Tokaniště	4 / 1, 2, 3, 4	2
2.	Žďárecké jezírko	2 / 1, 2	1
3.	Polecká nádrž	3 / 1, 2, 3	1
4.	Rybníček (České Žleby-Stožec)	5 / 1, 2, 3, 4, 5	4
5.	Pěkná - tůň	1 / 4	1
6.	Červený taras - tůň	4 / 2, 3, 4, 5	4
7.	Chlumský rybník	4 / 1, 2, 3, 4	4
8.	Světlohorská nádrž	5 / 1, 2, 3, 4, 5	2
9.	Prášilské jezero	7 / 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	2

Malá variabilita genu 12S rDNA byla patrná už z alignmentu (Příloha P1). Celková délka srovnávaných sekvencí byla 525 bází (včetně insercí a delecí vložených při srovnávání). Průměrná frekvence nukleotidů byla 31,2 % thymin, 19,5 %, cytosin, 36,3 % adenin, 12,9 % guanin. Specifická mutace se objevila v několika případech:

- 1) u větší části jedinců z Prášilského jezera (5/7) a jednoho jedince z lokality Pěkná (1/1) na 449. pozici alignmentu
- 2) specifické mutace sdílejí jedinci z lokalit Rybníček (jedinec 3 a 5), Chlumský rybník (jedinec 2 a 3) a Červený taras (jedinec 3), a to na pozicích 85, 99, 220, 378, 453
- 3) unikátní mutaci mají na 416. pozici oba analyzovaní jedinci z Žďárecké nádrže
- 4) unikátní mutací je mutace na 248. pozici u jedinců 1 a 4 z Chlumského rybníka
- 5) unikátní mutace na pozici 192 u jedinců 1, 2 a 4 z lokality Rybníček
- 6) mutaci na 138. pozici sdílejí jedinci z Prášilského jezera (7/7), Pěkná (1/1), Rybníček (jedinci 3 a 5), Chlumský rybník (4/4) a Červený taras (jedinci 2 a 3)

Poslední mutace na 77. pozici je rozmístěna spíše náhodně.

Příbuznost jednotlivých haplotypů je znázorněna v haplotypové mapě (obr. 13). Průměrný rozdíl mezi jednotlivými haplotypy je 0,4 % (0,0 – 1,1 %).



Obrázek 13: Haplotypová síť *D. longispina* dle 12S rDNA. Bílé kruhy představují hypotetické přechodové haplotypy. Síť byla vytvořena v programech TCS 1.2.1 (Clement et al., 2000) a tcsBU (Múrias dos Santos et al., 2016).

## 5. Diskuse

### Biologické zotavení z acidifikace v návaznosti na chemismus

V šumavských jezerech zapříčinila acidifikace vymizení mnoha druhů zooplanktonu (Fott et al., 1994). Velice překvapivé bylo však vymizení typických pelagických korýšů v Černém, Čertově, Plešném, Roklanském a Malém Javorském jezeře. Podobná situace byla zaznamenána v Tatrách, kde došlo ke kompletnímu vymizení zooplanktonu při hodnotách pH v rozmezí 5,2-6,2, prokázalo se, že zooplankton nebyl přímo ovlivněn poklesem hodnoty pH, ale nízkým množstvím potravy (Fott et al., 1994). Při hodnotách pH 4,6-6,5 se zvyšuje schopnost hliníku reagovat s reaktivním fosforem, následně spolu vytváří sloučeniny a dochází k limitaci P pro fytoplankton (Drickson, 1980).

Chemické zotavení začalo probíhat začátkem 90. let 20. století (Kopáček et al., 2001). Chemické zotavení vody reaguje se zpožděním z důvodu hystereze, což je zapříčiněno postupným uvolňováním okyselujících aniontů z povodí. (Kopáček & Stuchlík, 2002).

V 90. letech byly zaznamenány první náznaky biologického zotavení. Mezi první patřil postupný nárůst biomasy fytoplanktonu v Plešném jezeře, který byl doprovázen výrazným nárůstem početnosti vířníků. Dalším důkazem byl postupný návrat perloočky *Ceriodaphnia quadrangula* do Černého (1997), Čertova (2002) i Prášílského jezera (2007).

Dosavadní studie naznačují, že složení i celková biomasa planktonu v šumavských jezerech jsou limitovány zejména přísunem fosforu a hliníku do jednotlivých jezer (Vrba et al., 2001).

Ve sledovaném období 2012-2015 došlo u všech jezer k vzestupu hodnoty pH a k poklesu koncentrace celkového i labilního hliníku. V roce 2015 byla hodnota pH u sledovaných jezer v rozmezí 4,8-6,6. Nejnižších hodnot dosahovalo pH v Čertově jezeře a nejvyšších v jezeře Laka. Koncentrace celkového a labilního hliníku se pohybovaly v rozmezí 121-342 a 20-201 µg/l. Nejnižší koncentrace byly ve Velkém Javorském jezeře a nejvyšší v Čertově jezeře. Vrba et al. (2016) ve své práci uvádí, že koncentrace celkového hliníku přesahující hodnotu 200 µg/l jsou hlavní bariérou bránící zotavení šumavských jezer.

Zajímavá však byla přítomnost *D. longispina* v Prášílském jezeře v 80. letech, kdy se pH pohybovalo kolem hodnoty 4,5 (Fott et al., 1994). Výskyt této perloočky není v kyselých vodách běžný, ale druh *D. longispina* je z rodu *Daphnia* považován za nejacidotolerantnější a bývá nalézán i při hodnotě pH menší než 5. Příčinou byly zřejmě nízké koncentrace labilního hliníku (0,24 mg/l), Prášílské jezero je jezero s vysokým obsahem huminových kyselin, které vytváří komplexy s hliníkem. Takto vázaný hliník se již nevyznačuje toxickým působením. Spolu s *D. longispina* se v Prášílském jezeře hojně vyskytuje buchanka *Cyclops*

*abyssorum*. Pro tuto buchanku také nejsou acidifikované vody typickým habitatem, nicméně její nález při pH 4,36 potvrzuje možnost její lokální adaptace (Fryer, 1980).

*Cyclops abyssorum* představuje v současné době dominantní složku zooplanktonu v Plešném jezeře. Na podzim roku 2004 byl uskutečněn již zmiňovaný reintrodukční pokus, který provedli Kohout a Fott (Kohout a Fott, 2006). Šlo o reintrodukcii druhů *Cyclops abyssorum* a *Daphnia longispina* z Prášílského jezera, kdy bylo do Plešného jezera přeneseno přesně spočítané inokulum a v následujícím roce byl již zaznamenán výskyt buchanky *Cyclops abyssorum*. Vysazení tohoto druhu vedlo k postupnému vytlačení vznášivky *Heterocope saliens* z pelagiálu tohoto jezera. Vývoj druhů *Cyclops abyssorum* a *Heterocope saliens* v letech 1999-2015 je znázorněn na obrázku č. 11. V letech 2011 a 2015 se dominantní složkou zooplanktonu stal *Cyclops abyssorum* a byl zaznamenán pokles počtů vznášivky *Heterocope saliens*. Křenová (2009) se ve své práci zabývala studiem vývoje druhu *Cyclops abyssorum* po již zmiňovaném reintrodukčním pokusu. Po tomto pokusu došlo k exponenciálnímu nárůstu abundance *C. abyssorum* a k poklesu početnosti *H. saliens*, mezi roky 2006-2008 zaznamenáno ustálení počtu obou druhů. Moje výsledky však ukazují pokračující exponenciální růst populace *C. abyssorum* a výrazný pokles u *H. saliens*. Oba druhy mají podobné potravní nároky, ale mají rozdílnou vertikální (a možná i horizontální) distribuci, proto si přímo nekonkurují. Vzhledem k výskytu obou druhů v období před acidifikací se nepřepokládá vymizení ani jednoho z nich. Hrdličková (2014) se zabývala potravními strategiemi bezobratlých predátorů horských jezer. Zjistila, že hlavní složkou potravy dravé buchanky *C. abyssorum* v Prášílském jezeře jsou zástupci čeledi Daphniidae. V našich výsledcích však abundance perlooček převyšují abundance zmiňované buchanky, takže nepředpokládám, že predáčnický tlak je tak intenzivní, aby výrazně ovlivnil druhovou skladbu v tomto jezeře.

Vysazení a následný vývoj buchanky *Cyclops abyssorum* v Plešném jezeře měl významný vliv na abundanci planktonních vířníků. Buchanka *C. abyssorum* tak potvrdila roli důležitého bezobratlého predátora a spolu s druhem *H. saliens* se jim podařilo silně zredukovat početnost vířníků (Křenová, 2009). Významnou úlohu zde pravděpodobně sehrála i vertikální distribuce těchto dvou druhů. Zatímco *H. saliens* lovila vířníky u hladiny, *C. abyssorum* ovlivňoval jejich početnost v hypolimniu. To není ojedinělý jev, např. v jezeře Constance má druh *Cyclops vicinus* velký vliv na abundanci vířníků (Plaßmann a kol. 1997).

Kvalita potravy může značně ovlivnit postup zotavování, zejména poměr biogenních prvků C:P. Pokud je poměr základních prvků v nerovnováze, prvek, který se nedostává, se

stává pro organismus limitujícím (Sterner a kol. 1992). Pravděpodobnou příčinou neúspěšné reintrodukce *D. longispina* byl nevhodný poměr C:P z důvodu deficitu fosforu.

Od roku 2011 však byly pozorovány známky přítomnosti perloočky *Daphnia longispina* v Plešném jezeře, ve vzorcích z roku 2011 byly nalezeny její filtrační hřebínky, svlečky a několik málo mrtvých jedinců. Já se jsem ve svých zpracovaných vzorcích z roku 2015 našla jediného samce. V litorálním vzorku z roku 2014 bylo nalezeno v zadním litorálu přibližně 9 jedinců (M. Šorf, nepublikované údaje). Od roku 2011 stoupla hodnota pH z 5 na 6 a došlo k výraznému poklesu koncentrací hliníku ( $Al_t$  z 550  $\mu\text{g/l}$  na 280  $\mu\text{g/l}$ ,  $Al_l$  ze 100  $\mu\text{g/l}$  na 5  $\mu\text{g/l}$ ). Vzhledem k ekologické valenci *D. longispina* by současné chemické parametry vody neměly být překážkou k jejímu návratu.

Zooplankton Čertova jezera vykazuje nejchudší druhovou skladbu ze všech šumavských jezer. Po roce 2013 byly zaznamenány pouze *Ceriodaphnia quadrangula* a *Acanthocyclops vernalis*, vývoj jejich populace je znázorněn v obrázku č. 8. Buchanka *Acanthocyclops vernalis* je označována za jeden z nejodolnějších druhů vůči působení toxických kovů. Je velice často přítomna v acidifikovaných vodách v kanadských jezerech i v tatranských jezerech (Palmer et al., 2013; Hořická et al., 2006). Jezero dříve hojně obývala perloočka *Daphnia longispina*, její obnova z původní vaječné banky Čertova jezera je však nepravděpodobná. Kohout a Fott (2006) zkoumali odebraná vajíčka v sedimentu a potvrdili, že většina vajíček je prázdná či poškozena. Nilssen a Wærvågen (2002) popsali návrat této perloočky do norského jezera Saudlandsvatn, po vzestupu pH na hodnotu 5,6. Hodnoty hliníku v tomto norském jezeře však nedosahovaly tak vysokých hodnot jako na Šumavě. Hodnoty pH se v Čertově jezeře stabilně pohybují pod hodnotou 5. Od roku 2013 došlo k poklesu koncentrací labilního hliníku z hodnoty 280  $\mu\text{g/l}$  na 200  $\mu\text{g/l}$ . Jak již bylo zmíněno v literárním úvodu, limitní hodnota pH pro návrat citlivých taxonů je 5,8-6,2 (Guérol et al., 1993). Můžeme předpokládat, že recovery tohoto jezera je tedy přímo ovlivněno přetrvávajícím nízkým pH a vysokými koncentracemi hliníku.

Druhová skladba zooplanktonu jezera Laka je charakteristická velkým počtem litorálních druhů perlooček. Přítomnost pelagické perloočky *Daphnia longispina* byla zaznamenána v omezeném počtu v letech 1999 a 2007 (Vrba et al., 2016). Ve vzorcích z roku 2014 bylo nalezeno několik jedinců *Holopedium gibberum*. Příčinou nízkého oživení jezera Laka je pravděpodobně přítomnost dravé larvy *Chaoborus obscuripes*. V jezerech, kde nejsou přítomny ryby, obvykle přebírají funkci vrcholových predátorů bezobratlí dravci, jako jsou například již zmiňované larvy *Chaoborus sp.* Ty mohou výrazně ovlivnit druhovou skladbu, protože si selektivně vybírají menší kořist, obvykle vířníky a juvenilní stádia korýšů. Croteau

et al. (2003) zjistili, že *Chaoborus punctipennis*, běžný druh v kanadských jezerech (Kilarney park), ve své potravě preferuje perloočky před klanonožci. Po nástupu chemického zotavení tak zabraňují úspěšnému zotavení zooplanktonu (Nilssen and Wervagen, 2002; Wervagen and Nilssen, 2003). V tomto případě můžeme stabilizaci zooplanktonních korýšů očekávat až po návratu ryb, v tomto případě konkrétně pstruhů. Obecně lze říci, že malá a mělká horská jezera jsou charakteristická nízkým počtem či absencí planktonních taxonů (Kamenik et al., 2007), což je patrné i na druhovém složení perlooček Jezera Laka. Podobná druhová skladba jako v Laci byla zjištěna ve Starolesnianském plese v Tatrách, kde jsou přítomny litorální druhy perlooček čeledi Chydoridae (*Alona quadrangularis*, *Alonella excisa* a *Chydorus sphaericus*) a pouze jeden planktonní druh *Ceriodaphnia quadrangularis* (Hořícká et al., 2006).

Černé jezero má celkově poměrně málo druhů korýšů, za sledované období jich bylo celkem devět, z toho 6 perlooček a 3 klanonožci. K tomu se v současnosti v jezeře nachází 5 druhů vířníků. Ve všech vzorcích byla dominantním druhem v Černém jezeře *Ceriodaphnia quadrangula*, tato perloočka z jezera zmizela v průběhu vrcholné acidifikace v 80. letech. Návrat této perloočky byl zaznamenán v roce 1997, i ve vzorcích z roku 1999 byl zaznamenán tento jediný druh (Vrba et al., 2016). Vývoj druhu *C. quadrangula* od roku 1999 do roku 2015 je znázorněn v obrázku č. 7. Dalším náznakem pokračujícího zotavení byl návrat několika druhů litorálních perlooček, byly to *Acroperus harpae*, *Alona guttata* a *Alonopsis elongata*. Jejich abundance byla velmi nízká a nepřesáhla počet 1 jedince na litr. Dalším druhem, který spíše jen kvalitativně doplňoval značně chudý zooplankton, byla *Alona affinis*, která byla nalezena ve vzorcích z roku 2007. Ze zástupců klanonožců (Copepoda) bylo v roce 2003 nalezeno pouze několik jedinců *Diacyclops nanus*, *Acanthocyclops vernalis* a jejich kopepoditových a naupliových stádií (Vrba et al., 2016).

Palmer et al. (2013) popsal podobný průběh recovery v kanadských jezerech v okolí Sudbury. Vrcholnou acidifikaci zde přechaly následující acido-tolerantní druhy *Bosmina longirostris*, *Acanthocyclops vernalis* a *Chydorus sphaericus*. Následné biologické oživení popisují jako návrat rodu *Ceriodaphnia* koncem 90. let 20. století. Návrat původního rodu *Daphnia* nebyl zaznamenán, pravděpodobnou příčinou byla přetrvávající vysoké koncentrace toxických kovů, pocházejících z nedaleko vzdálených hutí.

Zajímavé jsou ojedinělé nálezy druhů *Daphnia longispina* v roce 2011 a *Chydorus sphaericus* v roce 2016 v Roklanském jezeře. Oba tyto druhy byly nalezeny též Fřičem v roce 1873. Litorální perloočka *Chydorus sphaericus* snáší vysoké rozpětí pH, Sacherová et al., (2006) uvádí rozmezí 3,4-7,2. Tato perloočka přežila vrcholnou acidifikaci v jezerech

v Tatrách, kde se z litorálu rozšířila v hojném počtu do pelagiálu a zabrala volnou niku (Stuchlík et al., 1985; Sacherová et al., 2006). V šumavských jezerech (KA, GA, LA, RA a ojediněle v PR) se vyskytuje v pelagiálu v malých počtech a ojediněle též v litorálních vzorcích. Tento trend rozšíření z litorálu v období vrcholné acidifikace byl zaznamenán u perloočky *Ceriodaphnia quadrangula* v Černém jezeře. V roce 2015 byla hodnota pH 5,8 a koncentrace labilního hliníku 5 µg/l. Roklanské jezero je charakteristické nízkými koncentracemi fosforu, rozpuštěného organického uhlíku a chlorofylu *a* (Vrba et al. 2000). Z těchto důvodů je považováno za nejoligotrofnější jezero na Šumavě, to může být hlavním důvodem nízkého oživení jezera.

Od roku 1999 do roku 2015 se druhová skladba Velkého Javorského výrazně nezměnila. Stabilně jsou nalézány litorální perloočky *Alona affinis*, *Alona guttata*, *Eurycerus lamellatus*, *Chydorus sphaericus* a *Polyphemus pediculus*. Nejhojněji se ve vzorcích z roku 2015 vyskytoval *Cyclops abyssorum* a jeho naupliová stádia. Jezero je charakteristické vysokými abundancemi perloočky *Holopedium gibberum*, její nejvyšší abundance byly v roce 2007 (Vrba et al., 2016), od toho roku však dochází k postupnému poklesu jejich počtů. Tato velká perloočka je chráněna rosolovitým obalem, který jí chrání před predátory a nadnáší ve vodním sloupci. Optimální hodnota pH je pro ni 4,5-6, Rybak a Blezdky (2010) však uvádí mez její tolerance pH 4-7,5. Vzhledem k příznivým výsledkům chemismu (pH – 6,50 a koncentrace labilního hliníku řádově v jednotkách µg/l) bychom její pokles mohli přisuzovat potravní konkurenci s nauplii buchaneč.

Pro nedostatek dat z Velkého Javorského jezera je těžké určit, zda dnešní přítomnost pelagických druhů korýšů je výsledek nějakého znovuoživení. Vzhledem k hojnému výskytu v květnu 1985, kdy pH jezerní vody dosahovalo jen 4,7 (Fott a kol. 1987), je ale pravděpodobnější jejich přežívání i v minulosti (Arzet a kol. 1986, Veselý 1994). Analýzou sedimentů bylo ve Velkém Javorském jezeře nalezeno dokonce 19 druhů perlooček, z toho dva typicky planktonní: *Daphnia longispina* a *Bosmina longispina* (Arzet a kol. 1986). V současnosti pravděpodobně *Daphnia* ani *Bosmina* Velké Javorské jezero neobývají, pro nedostatek odebraných vzorků to ale zcela vyloučit nelze. Často jsou totiž ve vzorcích nalézány zbytky krunýřů a hlavové štíty (*Bosmina*) nebo zbytky krunýřů a efiipia (*Daphnia*). Mohou mít ovšem původ ve zvířeném sedimentu, popřípadě se může jednat o populaci, která v omezeném počtu přežívá v litorálu, stejně jako *D. longispina* v Plešném jezeře.

Ani druhová skladba Malého Javorského jezera nevykazuje výrazné změny od roku 2011. Stabilně se zde vyskytují litorální perloočky *Alonella excisa*, *Polyphemus pediculus* a *Acroperus harpae*. V hojném počtu jsem zaznamenala perloočku *Ceriodaphnia*

*quadrangula* (19 ind/l), oproti roku 2011 jsou však její počty mnohonásobně nižší (v roce 2011 58 ind/l) (Vrba et al., 2016). Asi nejzajímavějším výsledkem je nález buchanky *Cyclops abyssorum*, která v tomto jezeře nebyla nikdy nalezena. Abundance dospělých jedinců nejsou vyšší než 1 ind/l, ale přesto tvoří významný podíl v celkové druhové skladbě tohoto jezera. Abundance naupliových stádií byla čtyřnásobně vyšší.

Můžeme předpokládat, že pravděpodobnou zdrojovou lokalitou této buchanky je vzhledem ke vzdálenosti Velké Javorské jezero. S jistotou to však potvrdit nemůžeme. Jak již bylo zmíněno v literárním úvodu, tak klanonožci nevytváří rezistentní vajíčka a dálkový transport jejich stádií je tedy mnohem obtížnější než u Cladocera (Binks et al., 2005). Dormantní vajíčka či kopepoditová stadia buchanek a vznášivek se mohou šířit, když jsou nalepena na těle zvířat či v blátě na jejich končetinách. Tato stadia, ale i dospělí jedinci, mohou být přeneseni též v trávicím traktu vodních ptáků (Dussart and Defaye 2001; Frisch et al., 2007).

Asi nejvhodnější metoda k ověření zdrojové lokality *C. abyssorum* by bylo využití molekulárně genetických metod, které jsem i já využila v druhé části této práce, ke zjištění genetické variability *D. longispina* na Šumavě. Krajíček (2007) sledoval genetickou variabilitu středoevropských populací buchanek z rodu *Cyclops* za pomoci amplifikace a sekvenace části genů pro cytochrom oxidázu I (COI) a 12S RNA. Slouková (2008) svůj výzkum zaměřila na rod *Acanthocyclops*. Oba potvrdili, že amplifikace genu 12S RNA byla bezproblémová.

### **Druhová skladba na lokalitách v okolí Plešného jezera**

V okolí 35 km od Plešného jezera jsme se pokusili nalézt zdrojovou lokalitu pro rekolonizaci Plešného jezera druhem *D. longispina*. Naším předpokladem bylo, že vodní ptactvo, zejména kachny divoké, které lze na Plešném jezeře pozorovat, přelétávají mezi lokalitami a například na hladině tůní níže v nivě Vltavy nocují, případně hnízdí. Při svých cestách tak mohou na nohou, peří či v trávicím traktu snadno přenést inokulum do Plešného jezera, což se potvrdilo i v minulosti, kdy byla v zooplanktonu Plešného jezera například nalezena *Bosmina longirostris*, která sice nepřežila dlouhé období, ale ukázala, že k přenosu inokula dochází (v tomto případě pravděpodobně z Lipenské nádrže). Lokality, které jsme vzorkovali, měly nejčastěji charakter tůní nebo rybníků, čemuž odpovídala druhová skladba zooplanktonu.

Ve vzorcích z 13 vodních ploch v okolí Plešného jezera bylo nalezeno celkem 17 zooplanktonních druhů. Největší druhová diverzita byla ve Žďáreckém jezírku, Tišíně



a Plešném jezeře se 7 druhů. Při porovnání s druhovou skladbou ledovcových jezer je v těchto zdrojích zastoupena většina druhů. V Rybníčku, Světlohorské nádrži a Žďáreckém jezírku jsem navíc zaznamenala drobnou perloočku *Bosmina longirostris* a v tůni Pěkná perloočku *Daphnia pulex*.

## Variabilita sekvencí DNA

Předpokladem bylo, že přestože je variabilita sekvencí genu 12S rRNA na vnitrodruhové úrovni nízká, bude možné na základě jediné či několika mutací detekovat populace z jednotlivých lokalit a určit tak, která populace je nejpravděpodobnějším zdrojem pro populaci v Plešném jezeře. Pro potvrzení jsme též plánovali použít ještě další genetické markery (například ITS nebo cytochromoxidázu). Splnění tohoto cíle se bohužel nepodařilo ze dvou důvodů. Prvním bylo, že ačkoli jsou v Plešném jezeře pozorovány důkazy o výskytu *D. longispina* již od roku 2011 (V. Sacherová, nepublikovaná data), navzdory našemu očekávání se nepodařilo odebrat vzorek jedince pro genetickou analýzu. Již zmíněných 9 jedinců nalezených Michalem Šorfem bylo fixováno formaldehydem (který poškozuje DNA) pro jiné účely a jediné efípium, které bylo fixováno etanolem, bylo prázdné, bez vajíčka. Získané sekvence a popsaná variabilita genu 12S rRNA však může do budoucna dobře posloužit jako srovnávací soubor pro detekci původu populací *D. longispina* v šumavských jezerech.

Amplifikace genu 12S RNA probíhala bezproblémově a podařilo se mi osekvenovat jedince ze všech odebraných lokalit. U několika jedinců jsem však zaznamenala specifické mutace. Genetická rozdílnost populací druhu *D. longispina* je v tomto případě dána přítomností různých klonů, u nichž se určitá mutace zafixovala. Druhý vhodný gen, kódující cytochromoxidázu *c* podjednotku I (COI), který se hojně používá v genetických studiích na druhové úrovni (Hebert et al., 2003), se mi přes značné úsilí a četné změny reakčních podmínek nepodařilo amplifikovat.

Zjištěná průměrná variabilita sekvencí genu 12S rRNA byla 0,4 %. U populací, z nichž se podařilo amplifikovat a sekvenovat více jedinců, je patrné, že jsou často složeny z více klonů. Přesto je zřejmé, že populace z Prášilského jezera má unikátní mutaci, kterou sdílel pouze jedinec z tůně u vesnice Pěkná, a pokud by se tato mutace vyskytla u populace v Plešném jezeře, bylo by možné se domnívat a dále ověřovat možnost, že dafnie v Plešném j. pochází právě z jedné z těchto lokalit. Podobné studie nejsou ojedinělé, analýzou variability genů pro COI a ND5 se podařilo odhalit původ a migrační cestu populací perloočky

*Cercopagis pengoi*, která úspěšně kolonizovala jezera v Severní Americe pomocí lodní dopravy z Černého a Baltského moře (Cristescu et al., 2001).

## 6. Závěr

Předkládaná diplomová práce se zabývá strukturou a vývojem zooplanktonu v šumavských jezerech v souvislosti s jejich zotavováním z acidifikace. Cílem této práce byla determinace a kvantitativní zpracování vzorků ZOOL z let 2012-2016 a následně je porovnat s dřívějšími záznamy a zhodnotit, jak pokračuje zotavení („recovery“) zooplanktonu šumavských jezer.

Dalším cílem bylo pomocí genetických markerů stanovit, odkud pochází *Daphnia longispina*, která se nyní ve velmi početně omezené populaci nachází v Plešném jezeře.

Ve sledovaném období došlo u všech jezer k vzestupu hodnoty pH a poklesu koncentrace celkového i labilního hliníku. Biologické zotavení u jednotlivých jezer probíhá odlišně a je omezeno kombinací biotických, abiotických faktorů a omezenou možností disperze.

Hlavními faktory omezujícími zotavení v Černém a Čertově jezeře jsou přetrvávající nízké hodnoty pH a vysoké koncentrace hliníku. V jezeře Laka výrazně druhovou skladbu ovlivňuje dravá larva *Chaoborus* a stabilizaci zooplanktonu bychom mohli očekávat po návratu ryb. Je patrné, že acidifikací indukovaná oligotrofizace Plešného jezera, která nastala po zvýšení pH, stále přetrvává. Zejména limitace P a následně nevhodná stechiometrie N:P v potravě je hlavní překážkou k návratu velkých filtrujících perlooček, zejména *D. longispina*, která zde byla nalezena v omezeném počtu v litorálu.

Zásadní změny jsem zaznamenala v druhové skladbě zooplanktonu Malého Javorského jezera, kde jsem našla populaci buchanky *C. abyssorum*, která se v tomto jezeře nikdy v minulosti nevyskytovala. Předpokládám, že zdrojem této nové populace by mohlo být nedaleko vzdálené Velké Javorské jezero. Otázkou pro další výzkum by mohlo být genetické ověření původu této buchanky.

Další známkou biologického zotavení je pokračující exponenciální růst abundance *C. abyssorum* v Plešném jezeře. Vysazení tohoto druhu zapříčinilo pokles abundance vznášivky *H. saliens* a značnou redukci abundance vírníků.

Z mých výsledků jsem mohla potvrdit přítomnost perloočky *Daphnia longispina* v Plešném jezeře. V omezeném počtu byla tato perloočka nalezena v litorálu a ojediněle i v pelagiálu. Bohužel se nám nepodařilo získat jedince vhodné pro následnou analýzu DNA, pro zjištění její zdrojové lokality.

Genetická variabilita mezi studovanými populacemi *D. longispina* byla velmi nízká (0,4%). Populace perloočky *D. longispina* v Prášilském jezeře má specifickou mutaci, kterou

sdílí jedinec z tůně Pěkná. V případě přítomnosti této mutace u jedinců z Plešného jezera bychom se mohli předpokládat, že perloočka pochází z jedné ze zmiňovaných lokalit.

Gen 12S RNA se ukázal, díky své nižší evoluční rychlosti vhodný pro studování variability na této úrovni. Otázkou pro další výzkum by mohlo být ověření genetické variability pomocí jiných genů například již zmiňované cytochromoxidázy a ND5.

## 7. Literatura

- Arnott S.E., Jackson A.B. & Alarie Y.** (2006): Distribution and potential effects of water beetles in lakes recovering from acidification. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 25(4), 811–824.
- Arzet K., Krause-Dellin D. and Steinberg C.** (1986): Acidification of four lakes in the Federal Republic of Germany as reflected by diatom assemblages, cladoceran remains and sediment chemistry. In: *Diatoms and lakes acidity* (eds. Smol J. P., Battarbee R. W., Davis R. B. a Meriläinen J.), W. Junk, Dordrecht, 227-250.
- Binks J.A., Arnott S.E. & Sprules, W.G.** (2005): Local factors and colonist dispersal influence crustacean zooplankton recovery from cultural acidification. *Ecol. Appl.* 15(6). 2025–2036.
- Boileau M.G., Hebert P.D.N., Schwartz S.,** (1992): Non-equilibrium frequency divergence: persistent founder effect in natural populations. *Journal of Evolutionary Biology.* 5, 1381-1387.
- Bowler D.E. and Benton T.G.** (2005): Causes and consequences of animal dispersal strategies: relating individual behaviour to spatial dynamics. *Biological Review.* 80, 205–225.
- Brendonck L. and De Meester L.** (2003): Egg banks in freshwater zooplankton: evolutionary and ecological archives in the sediment. *Hydrobiologia.* 491. 65–84.
- Brett, M. T. (1989):** Zooplankton communities and acidification processes (a review). *Water Air Soil Pollution.* 44, 387-414.
- Brönmark Ch. & Hansson L.A.** (2005): The biology of lakes and ponds-2nd ed. *Oxford University Press, University of Oxford*, 285.
- Cáceres C.E.** (1997). Dormancy in invertebrates. *Invertebrate Biology.* 116, 371–383.
- Cáceres C.E.** (1998): Interspecific variation in the abundance, production, and emergence *Daphnia* diapausing eggs. *Ecology.* 79(5), 1699-1710.
- Cañedo-Argueelles M. and Rieradevall M.** (2011): Early succession of the macroinvertebrate community in a shallow lake: Response to changes in the habitat condition. *Limnologia.* 41, 363–370.
- Clement M., Posada D. and Crandall K.** (2000): TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology.* 9(10), 1657-1660.
- Cohen G.M. & Shurin J.B.** (2003): Scale-dependence and mechanisms of dispersal in freshwater zooplankton. *Oikos*, 103(3), 603–617.
- Cooke S. L., Williamson C. E., Hargreaves B. R. and Morris D. P.** (2006): Beneficial and detrimental interactive effects of dissolved organic matter and ultraviolet radiation on zooplankton in a transparent lake. *Hydrobiologia*, 568, 15-28.
- Cristescu M. E. A., Hebert P. N. D., Witt J. D. S., MacIssac H. J. and Grigorovich I. A.** (2001): An invasion history for *Cercopagis pengoi* based on mitochondrial gene sequences. *Limnology and oceanography.* 46 (2), 224-229.

- Croteau M.N., Hare L. & Marcoux P.** (2003): Feeding patterns of migratory and non-migratory fourth instar larvae of two coexisting *Chaoborus* species in an acidic and metal contaminated lake: importance of prey ingestion rate in predicting metal bioaccumulation. *Archiv für Hydrobiologie*, 158, 57–74.
- De Meester L.** (1996): Local genetic differentiation and adaptation in freshwater zooplankton populations. Patterns and processes. *Ecoscience*. 3, 385–399.
- De Meester, L., Gomez, A., Okamura, B., Schwenk, K.** (2002): The monopolization hypothesis and the dispersal-gene flow paradox in aquatic organisms. *Acta Oecologica*. 23, 121–135.
- Dickson W.** (1980): Properties of acidified waters, 75–83. In: Proc. Int. Conf. Ecol. Impact Acid Precip., SNSF-project. Oslo, Norway.
- Dieckmann, U., O'Hara, B.** (1999): The evolutionary ecology of dispersal. *Trends in Ecology and Evolution*, 14, 88–90.
- Dussart B. H. & Defaye D.** (2001). Introduction to the copepoda (2nd edition), Backhuys Publishers, Leiden, A-J: 1–94
- Evans, C. D., Cullen, J. M., Alewell, C., Kopáček, J., Marchetto, A., Moldan, F., Wright, R.** (2001): Recovery from acidification in European surface waters. *Hydrobiologia*, 5(3), 283–297.
- Figuerola J., Green A.J. and Michot T.C.** (2005): Invertebrate eggs can fly: evidence of waterfowl-mediated gene flow in aquatic invertebrates. *American Naturalist*, 165, 274–280.
- Fott J., Pražáková M., Stuchlík E. & Stuchlíková Z.** (1994): Acidification of lakes in Šumava (Bohemia) and in the High Tatra Mountains (Slovakia). *Hydrobiologia*, 274, 37–47.
- Frič A.**, (1872): Ueber die Fauna der Böhmerwaldseen. Sitzungsbericht der Königlich-böhmischen Gesellschaft der Wissenschaften, Prag, 1, 3–12.
- Frič A.** (1873): Über weitere Untersuchungen der Böhmerwaldseen. *Sitz. k. böhm. Ges. Wiss.*, 3, 103–109.
- Frisch D., Green A.J. and Figuerola J.** (2007): High dispersal capacity of a broad spectrum of aquatic invertebrates via waterbirds. *Aquatic sciences*, 69(4), 168–574.
- Fryer G.** (1996): Diapause, a potent force in the evolution of freshwater crustaceans. *Hydrobiologia*. 320, 1–14,
- Glez-Peña, D., Gómez-Blanco, D., Reboiro-Jato, M., Fdez-Riverola, F., and Posada, D.** (2010): ALTER: program-oriented conversion of DNA and protein alignments. *Nucleic Acids Res.* 38, W14–W18.
- Gray D.K. & Arnott S.E.** (2009): Recovery of acid damaged zooplankton communities: measurement, extent and limiting factors. *Environmental Reviews*, 17, 81–89.
- Gray D. K., Arnott S. E., Shead J. A. & Derry A. M.** (2012): The recovery of acid-damaged zooplankton communities in Canadian Lakes: the relative importance of abiotic, biotic and spatial variables. *Freshwater biology*, 57, 741–758.

- Guérol F., Vein D., Jacquemin G. a Moreteau J.C.** (1993): Impact de l'acidification des ruisseaux vosgeins sur la biodiversité de la macrofaune benthique. *C. R. Acad. Sci.Paris, Science de la vie*, 316, 1388–1392.
- Hairston N.G.Jr., Van Bunt R.A., Kearns C.M. and Engstrom D.R.** (1995): Age and survivorship of diapausing eggs in a sediment egg bank. *Ekology*, 76, 1706–1711.
- Hairston N.G.Jr.** (1996): Zooplankton egg banks as biotic reservoirs in changing environments. *Limnology and Oceanography*, 41, 1087–1092.
- Hellich B.** (1884): Perloočky země České [Cladocera of Bohemia]. *Archív pro přírodovědný výzkum Čech*, Praha, 3, 130 str.
- Herbert P.N.D. and Hann B.J.** (1986): Genetic-variation and polution diferentiation in species of simocephalus (Cladocera, Daphniidae). *Canadian journal of zoology*, 64(10), 2246-2256.
- Hebert P.D.N., Remigio E.A., Colbourne J.K., Tailor D.J. a Wilson C.C.** (2002): Accelerated molecular evolution in halophilic Crustaceans. *Evolution*. 56(5), 909-926.
- Hesthagen T., Fjellheim A., Schartau A. K., Wright R. F., Saksgård R. & Rosseland B. O.** (2011): Chemical and biological recovery of Lake Saudlandsvatn, a formerly highly acidified lake in southernmost Nordway, in response to decreased acid deposition. *Science of the Total Environment*, 409, 2908-2916.
- Hillis D.M. a Dixon M.T.** (1991): Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *The quarterly review of biology* 66 (4), 411-452
- Hrdličková J.** (2014): Potravní strategie bezobratlých predátorů horských jezer. Diplomová práce, Univerzita Karlova v Praze, 67 str.
- Hořická Z., Stuchlík E., Hudec I., Černý M & Fott J.** (2006): Acidification and the structure of crustacean zooplankton in mountain lakes: The Tatra mountains (Slovakia, Poland). *Biologia Bratislava*, 61, 121–134.
- Keller W., Yan N.D., Holtze K.E. & Pitblado J. R.** (1990): Inferred effects of lake acidification on *Daphnia galeata mendotae*. *Environ. Sci. Technol.* 24(8), 1259–1261.
- Keller W. & Yan N.D.** (1998): Biological recovery from lake acidification: zooplankton communities as a model of patterns and processes. *Restoration Ecology*, 6, 364–375.
- Kohout L.** (2001): Zooplankton šumavských jezer. Diplomová práce, Univerzita Karlova v Praze, 156 str.
- Kohout, L. & Fott, J.** (2006): Restoration of zooplankton in a small acidified mountain lake (Plešné Lake, Bohemian Forest) by reintroduction of key species. *Biologia (Bratisl.)*, 61, 477–483.
- Kopáček J., Hejzlar J., Borovec J., Porcal P. & Kotorová I.** (2000): Phosphorus inactivation by aluminum in the water column and sediments: Lowering of in-lake phosphorus availability in an acidified watershed-lake ecosystem. *Limnology and Oceanography*, 45, 212–225.
- Kopáček J., Hejzlar J., Kaňa J. & Porcal P.** (2001): Faktory ovlivňující chemismus šumavských jezer. *Aktuality šumavského výzkumu*, 63—66.

- Kopáček J. & Stuchlík E. (2002):** Dlouhodobé trendy acidifikace tatranských jezer. *Oecologia Montana*, 11, 9–12.
- Kowalik R. A., Cooper D. M., Evans C.D. & Ormerod S.J. (2007):** Acidic episodes retard the biological recovery of upland British streams from chronic acidification. *Global Change Biology*, 13, 2439–2452.
- Krajíček M. (2007):** Genetická variabilita středoevropských buchaneč r. Cyclops. Diplomová práce, Univerzita Karlova v Praze, 39 str.
- Křenová R. (2006):** Vliv reintrodukce druhu Cyclops abyssorum (Crustacea: Copepoda) na zooplankton Plešného jezera. Diplomová práce, Univerzita Karlova v Praze, 53 str.
- Larsson P. (1978):** The life cycle dynamics and production of zooplankton in Øvre Heimdalsvatn. *Holarctic Ecology*, 162–218.
- Lynch M. and Jarrell P.E. (1993):** A method for calibrating molecular clock and its application to animal mitochondrial DNA. *Genetics*, 135(4), 1197–1208.
- Múrias dos Santos, A., Cabezas, M.P., Tavares, A.I., Xavier, R., and Branco, M. (2016):** tcsBU: a tool to extend TCS network layout and visualization. *Bioinformatics* 32, 627–628.
- Nedbalová L., Vrba J., Fott J., Kohout L., Kopáček, J., Macek M. & Soldan, T. (2006):** Biological recovery of the Bohemian Forest lakes from acidification. *Biologia (Bratisl.)*, 61, 453–465.
- Nilssen J. P. & Wærvågen S. B. (2002):** Intensive fish predation: an obstacle to recovery following liming of acid damaged lakes? *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 9, 73–84.
- O'Brien W.J., Barfield M., Bettez N.D., Gettel G.M., Hershey A.E., McDonald M.E., Miller M. C., Mooers H., Pastor J., Richards C. & Schuldt J. (2004):** Physical, chemical, and biotic impacts on arctic zooplankton communities and diversity. *Limnology and Oceanography*, 49, 1250–1261.
- Ošmera S. (1971):** K poznání zooplanktonu šumavských jezer. *Ochránářský průzkum* 2, 5–8.
- Palmer E., Keller W. B. & Yan N. D. (2013):** Gauging recovery of zooplankton from historical acid and metal contamination: the influence of temporal changes in restoration targets. *J. APPL. ECOL.*, 50, 107–118.
- Panov V.E., Krylov P.I. and Riccardi N. (2004):** Role of diapause in dispersal and invasion success by aquatic invertebrates. *Journal of Limnology*, 63. 56–69.
- Persson G. (2008).** Zooplankton response to long-term liming: Comparison of 15 limed and 15 reference lakes in Sweden. *Limnologica*, 38 (1), 1–13.
- Plaßman T., Maier G. a Stich H. B. (1997):** Predation impact of *Cyclops vicinus* on the rotifer community in Lake Constance in spring. *Journal of Plankton Research*. 19(8), 1069–1079.
- Pollard H. G., Colbourne J. K., Keller W. (2003):** Reconstruction of Centuries-old *Daphnia* Communities in a Lake Recovering from Acidification and Metal Contamination. *Ambio*, 32(3), 214–218.



- Procházková L. a Blažka P. (1999):** Chemismus a oživení šumavských jezer na počátku 60. let. [Chemistry and biology of the Bohemian Forest lake in the early 1960 s]. *Silva Gabreta*, 3, 65–72.
- Rybak J. I., Bledzki L. A. (2010):** Stodkowodne skorupiaki planktonowe. Wydanie 1. Warszawa: 357 s.
- Sacherová V., Kršková R., Stuchlík E., Hořická Z., Hudec I. a Fott J. (2006):** Long-term change of the littoral Cladocera in the Tatra Mountain lakes through a major acidification event. 61/Biologia Supplement 18., in press.
- Schindler D. W. (1988):** Effects of acid rain on freshwater ecosystems. *Science*, 239, 149–157.
- Schwenk K., Sand A., Boersma M., Brehm M., Mader E., Offerhaus D. a Spaak P. (1998):** Genetic markers, genealogies and biogeographic patterns in the Cladocera. *Aquatic Ecology* 32: 37-51
- Seda J. and Petrusek A. (2011):** Daphnia as a model organism in limnology and aquatic biology: introductory remarks. *Journal of Limnology*, 70(2), 337-344.
- Skjelkvåle B. L., Evans C., Larsen T., Hinda A. & Raddum G. G. (2003):** Recovery from acidification in European surface waters: A view to the future. *Ambio*, 32(3), 170-175.
- Slouková J. (2008):** Genetická a morfologická variabilita středoevropských buchanek rodu *Acanthocyclops*. Diplomová práce, Univerzita Karlova v Praze, 46 str.
- Smol. J. P.; Birks H. J. B.; Last, W. M. (eds) (2001):** Tracking environmental change using lake sediments. Vol. 4, Zoological indicators. Kluwer Academic Publishers.
- Smrž, J. (2013):** Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých. Karolinum, Praha, 194 s.
- Soldán T., Bojková J., Vrba J., Bitušík P., Chvojka P., Papáček M., et al. (2012):** Aquatic insects of the Bohemian Forest glacial lakes: Diversity, long-term changes, and influence of acidification. *Silva Gabreta*, 18, 123–283.
- Stenson J. and Eriksson M. (1989):** Ecological mechanisms important for the biotic changes in acidified lakes in Scandinavia. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 18(1-2), 201-206.
- Stenson J., Svensson J., et al., (1993):** Changes and interactions in pelagic community in acidified lakes in Sweden. *Ambio*, 22(5), 277-282.
- Sterner R. W., Elser J. J., Hessen D. O. (1992):** Stoichiometric relationship among producers consumers and nutrient cycling in pelagic ecosystems. *Biochemistry* 17, 49-67.
- Sterner R. W., Hagemeier D. D., Smith W. L. & Smith R. F. (1993):** Phytoplankton nutrient limitation and food quality for daphnia. *Limnol. Oceanogr.*, 38(4), 857–871.
- Straškrabová V., Simek K., Macek M., Hartman P., Fott J., Blazo M., (2000):** Pelagic food webs and microbial loop in low-alkalinity mountain lakes. *International association of theoretical and applied limnology*, 27 (1), 513-516.

- Stuchlík E., Stuchlíková Z., Fott J., Růžička L. and Vrba J.** (1985): Effect of acid precipitation on waters of the TANAP territory, Treatises concerning the Tatra National Park. 26: 173-211.
- Šrámek-Hušek, R., Straškraba, M., Brtek, J.** (1962): Lupenonožci – Branchiopoda. Fauna ČSSR 16. Nakladatelství ČSAV, Praha, 472 s.
- Taylor D.J., Hebert P.N.D. and Colbourne J.K.** (1996): Phylogenetics and evolution of the *Daphnia longispina* group (Crustacea) based on 12S rDNA sequence and allozyme variation. *Molecular phylogenetics and evolution*, 5(3), 495-510.
- Townsend C.R., Begon M. and Harper J.L.** (2008): Essentials of ecology. ISBN: 978-1-4051-5658-5 pp. 510
- Ungermanová L., Kolaříková K., Stuchlík E., Senoo T., Horecký J., Kopáček J., Chvojka P., Táτοςová J., Bitusik P. and Fjellheim A.** (2014): Litoral macroinvertebrates of acidified lakes in the Bohemian forest. *Biologia*. 69(9), 1190-1201.
- Veselý, J.** (1994): Investigation of the nature of the Šumava lakes: A review. *Časopis Národního muzea, Řada přírodovědná*, 163, 103–120.
- Vrba J., Kopáček J. & Fott J.** (2000): Long-term limnological research on the Bohemian Forest lakes and their recent status. *Silva Gabreta*, 4, 7-28.
- Vrba J., Fott J., Kopáček J., Nedbalová L. & Nedoma J.** (2001): Dlouhodobý limnologický výzkum šumavských jezer a jejich současný stav. *Aktuality šumavského výzkumu*, 56-57.
- Vrba J., Kopáček J., Fott J., Kohout L., Nedbalová L., Prazáková M., Soldán T. & Schaumburg J.** (2003): Long-term studies (1871-2000) on acidification and recovery of lakes in the Bohemian Forest (central Europe). *Sci. Total Environ.* 310 (1–3), 73–85.
- Vrba J., Kopáček J., Bittl T., Nedoma J., Štrojsová A., Nedbalová L., Kohout L. & Fott J.** (2006): A key role of aluminium in phosphorus availability, food web structure, and plankton dynamics in strongly acidified lakes. *Biologia*, 61, 441-451.
- Vrba J., Fott J., Kopáček J., Nedbalová L., Čtvrtlíková M. & Šantrůčková H.** (2009): Deset let komplexního výzkumu zotavování šumavských jezer a jejich povodí z acidifikace. Sborník příspěvků 15. konference České limnologické společnosti a Slovenskej limnologickej spoločnosti, Třeboň.
- Vrba J., Kopáček J., Fott J. & Nedbalová L.** (2014): Forest die-back modified plankton recovery from acidic stress. *Ambio*, 43, 207–217.
- Wærvågen S.B. & Nilssen, J.P.** (2003): Major changes in pelagic rotifers during natural and forced recovery from acidification. *Hydrobiologia*, 499, 63–82.
- Williams P., Whitfield M. and Biggs J.** (2008): How can we make new ponds biodiverse? A case study monitored over 7 years. *Hydrobiologia*, 597, 137–148.
- Williamson, C. E.** (1983): Invertebrate predation on planctonic rotifers. *Hydrobiologia*, 104, 385-396.
- Yan N.D., Keller W., MacIsaac H.J. & McEachern L.J.** (1991): Regulation of zooplankton community structure of an acidified lake by Chaoborus. *Ecological Applications*, 1, 52–65.

**Yan N. D., Leung B., Keller W., Arnott S. E, Gunn J. M. & Raddum G.G. (2003):** Developing conceptual frameworks for the recovery of aquatic biota from acidification. *Ambio*, 32(3), 165–169.

**Zaffagnini F. (1987):** Ultrastructural investigations on the labral glands of *Daphnia – obusta* (Crustacea, cladocera). *Journal of morphology*, 193(1), 23-33.

**Zima J., Macholán M., Munclinger P. a Piálek P. (2004):** Genetické metody v zoologii. Nakladatelství Karolinum, Praha

## Přílohy

Tabulka P 1: Historický výskyt zooplanktonních druhů koryšů v Černém jezeře

DRUH/ROK	1871	1890-1896	1935-1937	1947	1961	1972	1979	1997-2000	1999-2011
<b>Perloočky (Cladocera)</b>									
<i>Acroperus harpae</i>	+	+	+	+	+		+	+	+
<i>Alona affinis</i>		+	+					(+)	+
<i>Alona guttata</i>	+	++	+					+	+
<i>Alonella excisa</i>	+	+	+					+	
<i>Alonella nana</i>		(+)	+						
<i>Alonopsis elongata</i>	++	++	++	+	+		+	+	+
<i>Bosmina longispina</i>	++	++				(?)			
<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	++	(+)?	++	+	+		+	++	+
<i>Daphnia longispina</i>	++	?	?						
<i>Eurycercus lamellatus</i>		+	+						
<i>Holopedium gibberum</i>	++			+					
<i>Chydorus sphaericus</i>									
<i>Illyocryptus sordidus</i>								(+)	
<i>Peracantha truncata</i>									
<i>Polyphemus pediculus</i>	+	+	+						
<b>Klanonožci (Copepoda)</b>									
<i>Acantocyclops vernalis</i>							+		+
<i>Cyclops abyssorum</i>	+	+	+	+	+				
<i>Diacyclops nanus</i>		+	+				+	+	+
<i>Eucyclops serrulatus</i>	+	+	+					+	
<i>Macrocyclus fuscus</i>	+	+	+					+	

Tabulka P 2: Historický výskyt druhů zooplanktonních koryšů v Čertově jezeře

DRUHY/ROK	1871	1894-1896	1947	1969	1982-1993	1997-1999	1999-2011
<b>Perloočky (Cladocera)</b>							
<i>Acantoholeberis curvirostris</i>				+	+	+	
<i>Acroperus harpae</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Alona affinis</i>					+	+	+
<i>Alona guttata</i>					+		
<i>Alona quadrangularis</i>				+	(+)		
<i>Alonella excisa</i>	+				+	+	+
<i>Alonopsis elongata</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bosmina longispina</i>	+						
<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>		+					+
<i>Daphnia longispina</i>	+	+					
<i>Eurycercus lamellatus</i>		+					
<i>Holopedium gibberum</i>	+						
<i>Pleuroxus truncatus</i>	+				+		
<i>Polyphemus pediculus</i>	+	+		+			
<i>Simocephalus exspinosus</i>				+			
<i>Streblocerus serricaudatus</i>				+			
<b>Klanonožci (Copepoda)</b>							
<i>Acantocyclops vernalis</i>					+	+	+
<i>Cyclops abyssorum</i>	+	+					
<i>Diacyclops nanus</i>			+		+	+	
<i>Eucyclops serrulatus</i>	+						
<i>Macrocyclus fuscus</i>					+	+	

Tabulka P 3: Historický výskyt zooplanktonních druhů koryšů v Prášilském jezeře

DRUHY/ROK	1871	1960-1961	1986-1993	1991	1997-1999	1999-2011
<b>Perloočky (Cladocera)</b>						
<i>Acantoholeberis curvirostris</i>					+	
<i>Acroperus harpae</i>	+		+	+	+	+
<i>Alona affinis</i>	+		+	+	+	+
<i>Alona guttata</i>			+	+	+	+
<i>Alona quadrangularis</i>				+	(+)	
<i>Alonella excisa</i>	+		+	+	+	+
<i>Alonella exigua</i>	+		(+)	+		
<i>Alonella nana</i>	+		+	+		
<i>Alonopsis elongata</i>	+				+	
<i>Bosmina longispina</i>				+		
<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	+			+		+
<i>Daphnia longispina</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Euricercus lamellatus</i>	+			+		
<i>Graptoleberis testudinaria</i>				+		
<i>Holopedium gibberum</i>					(+)	
<i>Chydorus sphaericus</i>	+			+		
<i>Pleuroxus truncatus</i>	+			+		
<i>Polyphemus pediculus</i>	+		+	+	+	
<i>Streblocerus serricaudatus</i>	+					
<b>Klanonožci (Copepoda)</b>						
<i>Cyclops abyssorum</i>	?	+	+		+	
<i>Diacyclops nanus</i>			+		+	
<i>Eucyclops serrulatus</i>	+				(+)	
<i>Macrocyclus fuscus</i>	?		(+)		+	

Tabulka P 4: Historický výskyt zooplanktonních druhů koryšů v Plesném jezeře

DRUH/ROK	1872	1906-1910	1960-1961	1969	1986-1993	1997-1999	1999-2011
<b>Perloočky (Cladocera)</b>							
<i>Acroperus harpae</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Alona affinis</i>		+			+	+	+
<i>Alona guttata</i>		+		+	+	+	+
<i>Alona quadrangularis</i>							
<i>Alonella excisa</i>		+			+	+	+
<i>Alonella exigua</i>					+		
<i>Alonella nana</i>							
<i>Alonopsis elongata</i>				+			
<i>Daphnia longispina</i>	+	+					
<i>Chydorus sphaericus</i>		+					
<i>Pleuroxus truncatus</i>	+	+					
<i>Polyphemus pediculus</i>							
<i>Simocephalus exspinosus</i>	+						
<b>Klanonožci (Copepoda)</b>							
<i>Acanthocyclops vernalis</i>					+		+
<i>Cyclops abyssorum</i>	+	?	?	?			+
<i>Diacyclops nanus</i>		+			+		
<i>Eucyclops serrulatus</i>		+			+		
<i>Hetercope saliens</i>	+	+	+	+	+		+
<i>Macrocyclus fuscus</i>		+					

Tabulka P 5: Historický výskyt zooplanktonních druhů koryšů v jezeře Laka

DRUH/ROK	1871	1986-1993	1991	1997-1999	1999-2011
<b>Perloočky (Cladocera)</b>					
<i>Acantholeberis curvirostris</i>				+	+
<i>Acroperus harpae</i>	+	+		+	+
<i>Alona affinis</i>	+	+		+	+
<i>Alona guttata</i>				(+)	
<i>Alona quadrangularis</i>				+	+
<i>Alonella excisa</i>	+	+		+	+
<i>Alonella exigua</i>			+		+
<i>Alonella nana</i>		+			
<i>Alonopsis elongata</i>	+	+	+	+	+
<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	+	+		+	+
<i>Daphnia longispina</i>	+	(+)		+	+
<i>Eurycercus lamellatus</i>	+	+	+	+	+
<i>Graptoleberis testudinaria</i>				(+)	
<i>Chydorus sphaericus</i>	+				+
<i>Macrothrix laticornis</i>	+				
<i>Peracantha truncata</i>	+	+	+	+	
<i>Polyphemus pediculus</i>	+	+	+	+	+
<i>Simocephalus vetulus</i>	+	+	+	+	+
<i>Scapholeberis mucronata</i>	+				
<i>Strebloceros serricaudatus</i>	+				+
<b>Klanonožci (Copepoda)</b>					
<i>Acanthocyclops vernalis</i>				+	+
<i>Diacyclops nanus</i>		(+)			
<i>Eucyclops serrulatus</i>		+		(+)	
<i>Macrocyclops distinctus</i>		(+)			
<i>Macrocyclops fuscus</i>		+		+	
<i>Paracyclops fimbrians</i>		+			



Tabulka P 6: Přehled zooplanktonních korýšů šumavských jezer s rozlišením jejich habitatů v období 1999-2016 (L=Litorál, P=Pelagiál) (Data 1999-2011 – Vrba et al., 2016)

DRUH/JEZERO	Habitat	CN	CT	PR	PL	LA	RA	GA	KA
<b>Perloočky (Cladocera)</b>									
<i>Acantholeberis curvirostris</i>	L					+	+		+
<i>Acroperus harpae</i>	L	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Alona affinis</i>	L	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Alona guttata</i>	L	+		+	+	+	+	+	+
<i>Alona quadrangularis</i>	L					+			+
<i>Alonella excisa</i>	L	+	+	+	+	+			+
<i>Alonella exigua</i>	L			+		+			
<i>Alonella nana</i>	P							+	+
<i>Alonopsis elongata</i>	L	+	+			+	+		+
<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	L+P	+	+	+		+	+	+	+
<i>Daphnia longispina</i>	P			+	?	+	+		
<i>Eurycerus lamellatus</i>	L					+		+	+
<i>Graptoleberis testudinaria</i>	L							+	
<i>Holopedium gibberum</i>	P					+		+	
<i>Chydorus sphaericus</i>	L			+		+	+	+	+
<i>Ilyocryptus sp.</i>	L					+			
<i>Pleuroxus truncatus</i>	L					+	+	+	
<i>Polyphemus pediculus</i>	L	+		+		+	+	+	+
<i>Sida crystallina</i>	L							+	+
<i>Simocephalus vetulus</i>	L					+			
<i>Streblocerus sericaudatus</i>	L					+		+	
<b>Klanonožci (Copepoda)</b>									
<i>Acantocyclops vernalis</i>	L+P	+	+		+	+	+		+
<i>Cyclops abyssorum</i>	P			+	+			+	+
<i>Diacyclops nanus</i>	L	+		+			+		
<i>Hetercope saliens</i>	L+P				+				
<i>Megacyclops sp.</i>	L								+
<i>Macrocyclus fucus</i>	L				+	+			+
<b>Celkový počet druhů</b>		<b>9</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>20</b>	<b>12</b>	<b>14</b>	<b>17</b>

Tabulka P 7: Abundance ZOOL v Černém jezeře

Skupina	Druh	1999	2003	2007	2011	2015
Cladocera:	<i>Acroperus harpae</i>		0,005		0,027	
	<i>Alona affinis</i>			0,001		
	<i>Alona guttata</i>		0,001			
	<i>Alonopsis elongata</i>		0,001			
	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	0,525	1,484	0,631	2,995	6,375
	<i>Polyphemus pediculus</i>					
Copepoda:	<i>Acanthocyclops vernalis</i>					
	<i>Copepodites</i>				0,026	
	<i>Cyclops abyssorum</i>					
	<i>Diacyclops nanus</i>		0,002			
	<i>nauplii</i>		0,026		0,079	

Tabulka P 8: Abundance ZOOL v Čertově jezeře

Skupina	Druh	1999	2003	2007	2011	2014	2015
Cladocera:	<i>Acroperus harpae</i>	+					
	<i>Alonella excisa</i>		+				
	<i>Alonopsis elongata</i>				+		
	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>			5,718	0,014	0,282	0,332
Copepoda:	<i>Acanthocyclops vernalis</i>	1,101	0,369	0,022	0,005	0,02	0,073
	<i>copepodites</i>	+		0,22	0,21		0,373
	<i>nauplii</i>	3,184	74,397	0,5	10,639	0,47	0,37

Tabulka P 9: Abundance ZOOL v Prášílském jezeře

Skupina	Druh	1999	2003	2007	2011	2012
Cladocera:	<i>Acroperus harpae</i>	0,001			0,031	
	<i>Alona affinis</i>		0,001			
	<i>Alona guttata</i>		0,001			
	<i>Alonella excisa</i>	0,001	0,002			
	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>		0,068	0,001		
	<i>Daphnia longispina</i>	2,504	17,564	7,422	13,879	4,578
	<i>Polyphemus pediculus</i>	0,001	0,039			
Copepoda:	<i>Cyclopoida copepodites</i>	5,028			1,572	
	<i>Cyclops abyssorum</i>	5,473	12,872	1,0	5,133	3,3938
	<i>Diacyclops nanus</i>			0,04		
	<i>nauplii</i>	1,43	0,126	0,43	0,594	

Tabulka P 10: Abundance ZOOL v Plešném jezeře

Skupina:	Druh	1999	2003	2007	2011	2015
Cladocera:	<i>Acroperus harpae</i>	0,001	0,001		0,001	
	<i>Alona affinis</i>				0,005	0,03
	<i>Alona guttata</i>	0,001				
	<i>Alonella excisa</i>	0,001				
Copepoda:	<i>Acanthocyclops vernalis</i>	0,745	0,2			
	<i>Copepodites</i>	0,001		0,473	0,346	3,37
	<i>Cyclops abyssorum</i>			1,272	1,592	6,693
	<i>Heterocope saliens</i>	0,026	0,641	0,317	0,251	0,036
	<i>nauplii</i>	2,463	1,384	7,785	16,479	43,14

Tabulka P 11: Abundance ZOOL v jezeře Laka

Skupina	Druh	1999	2003	2007	2011	2014	2015
Cladocera:	<i>Acantholeberis curvirostris</i>			0,004			
	<i>Acroperus harpae</i>	0,001	0,314	0,343	0,01	0,017	0,088
	<i>Alona affinis</i>	0,001	2,523	0,08	0,007		0,057
	<i>Alona quadrangularis</i>	0,001					
	<i>Alonella excisa</i>	0,001	0,799		0,001		
	<i>Alonella exigua</i>			0,001			
	<i>Alonopsis elongata</i>			0,008			
	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	0,001	0,669	0,004		0,914	0,303
	<i>Daphnia longispina</i>	0,001		0,033			
	<i>Eurycercus lamellatus</i>	0,001				0,025	
	<i>Holopedium gibberum</i>					0,013	
	<i>Chydorus sphaericus</i>			0,004			0,08
	<i>Ilyocryptus sp.</i>				0,001		
	<i>Pleuroxus truncatus</i>		0,007		0,001		
	<i>Polyphemus pediculus</i>				0,011	0,093	
	<i>Simocephalus vetulus</i>	0,001	0,629	0,001	0,02		
	<i>Streblocerus serricaudatus</i>			0,24			
Copepoda:	<i>Acanthocyclops vernalis</i>	0,628					
	<i>Copepodites</i>		31,081	0,21	0,007	0,004	0,171
	<i>nauplii</i>	4,402	5,66		0,314		0,08
Chaoborus sp.	<i>Chaoborus</i>	+	0,435		0,104	+	+

Tabulka P 12: Abundance ZOOL v Malém Javorském jezeře

Skupina	Druh	1999	2003	2007	2011	2015
Cladocera:	<i>Acantholeberis curvirostris</i>		0,003	0,076		
	<i>Acroperus harpae</i>	0,001	0,180	0,224	0,057	
	<i>Alona affinis</i>			0,071	0,028	
	<i>Alona guttata</i>		0,160			
	<i>Alona quadrangularis</i>	0,001	0,029			
	<i>Alonella excisa</i>		0,170	0,052	0,052	
	<i>Alonella nana</i>	0,001				
	<i>Alonopsis elongata</i>			0,093	0,062	
	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	0,823	14,993	2,491	58,411	18,967
	<i>Eurycercus lamellatus</i>	0,001		0,013	0,001	
	<i>Chydorus sphaericus</i>	0,081	0,747	0,228		
	<i>Pleuroxus truncatus</i>					0,208
	<i>Polyphemus pediculus</i>		0,002	0,127	0,185	0,940
	<i>Sida crystallina</i>	0,001		0,028	0,271	0,050
Copepoda:	<i>Acanthocyclops vernalis</i>	0,028				
	<i>Copepodites</i>	0,001	0,656	0,026	0,066	0,840
	<i>Cyclops abyssorum</i>					0,498
	<i>Macrocyclus fuscus</i>				0,001	
	<i>nauplii</i>	0,681	2,358	0,419	0,052	4,250
Chaoborus sp.	<i>Chaoborus</i>		0,007			

Tabulka P 13: Abundance ZOOL ve Velkém Javorském jezeře

Skupina	Druh	1999	2003	2007	2011	2015
Cladocera	<i>Acroperus harpae</i>	+	+			
	<i>Alona affinis</i>		0,004	0,003	0,008	
	<i>Alona guttata</i>		0,043			
	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	0,043	1,163	0,040	0,343	0,375
	<i>Eurycercus lamellatus</i>	0,16	0,630		1,297	0,350
	<i>Graptoleberis testudinaria</i>		0,001			
	<i>Holopedium gibberum</i>	0,015		21,207	10,226	1,850
	<i>Chydorus sphaericus</i>				0,042	2,110
	<i>Polyphemus pediculus</i>			0,093	0,142	
	<i>Sida crystallina</i>	0,0001			+	
Copepoda	<i>Copepodites</i>	+		+	0,747	0,79
	<i>Cyclops abyssorum</i>	8,574	10,939	2,743	1,945	2,256
	<i>nauplii</i>	2,752	4,678	0,790	3,695	16,310

Tabulka P 14: Abundance ZOOL v Roklanském jezeře

Skupina	Druh	1999	2003	2007	2011	2014	2015	2016
Cladocera:	<i>Acantholeberis curvirostris</i>				0,002			
	<i>Acroperus harpae</i>	0,001	0,099		0,003			0,001
	<i>Alona affinis</i>				1,384	0,001	0,001	0,001
	<i>Alona guttata</i>		0,002					
	<i>Alonopsis elongata</i>			0,003				
	<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>				0,001	0,001	0,001	0,086
	<i>Daphnia longispina</i>				0,001			
	<i>Chydorus sphaericus</i>						0,001	0,0002
	<i>Pleuroxus truncatus</i>		0,001					
	<i>Polyphemus pediculus</i>		0,157					
Copepoda:	<i>Acanthocyclops vernalis</i>		0,057	0,003		0,007	0,007	0,003
	<i>Copepodites</i>			0,003	0,004			0,03
	<i>Diacyclops nanus</i>				0,001			
	<i>nauplii</i>	0,001	0,409		0,314			0,09

## Příloha P1: Alignment 12S rDNA *Daphnia longispina*.

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
DL-Prasilske-1	CGATATG	TACACACTT	TATTGCCTT	ATTCAAAT	AATTTTACT	TAAATTACT	TTACTAATAA	ATCCACCTT	CAACCA	GCTTCGAGGCTTAGTATCCATAT
DL-Prasilske-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-5	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-6	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-7	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Pekna-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Svetlohorská-1	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Svetlohorská-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Svetlohorská-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Svetlohorská-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	T	.....	.....
DL-Svetlohorská-5	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Tokaniste-1	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Tokaniste-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Tokaniste-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	T	.....	.....
DL-Tokaniste-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Polecka-1	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Polecka-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Polecka-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Rybníček-1	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Rybníček-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Rybníček-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	T	A	G
DL-Rybníček-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	T	.....	.....
DL-Rybníček-5	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	A	G
DL-Zdarecké-1	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Zdarecké-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Chlumský-1	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Chlumský-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	A	G
DL-Chlumský-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	T	A	G
DL-Chlumský-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	T	.....	.....
DL-Cervený-Taras-2	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Cervený-Taras-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	A	G
DL-Cervený-Taras-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Cervený-Taras-5	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	T	.....	.....
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
DL-Prasilske-1	TTGTAAG	AGAAATG	TAGCTC	ACCTCC	ACCTCT	ATATAA	AACTG	CACCTT	GACCTG	AGATAAAAAATCTTTTAATTTGAAACATTCCTAGAAAGTAATC
DL-Prasilske-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-5	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-6	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-7	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Pekna-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Svetlohorská-1	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Svetlohorská-2	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Svetlohorská-3	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Svetlohorská-4	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Svetlohorská-5	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Tokaniste-1	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Tokaniste-2	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Tokaniste-3	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Tokaniste-4	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Polecka-1	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Polecka-2	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Polecka-3	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Rybníček-1	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	A	.....
DL-Rybníček-2	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	A	.....
DL-Rybníček-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Rybníček-4	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	A	.....
DL-Rybníček-5	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Zdarecké-1	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Zdarecké-2	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Chlumský-1	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Chlumský-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Chlumský-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Chlumský-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Cervený-Taras-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Cervený-Taras-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Cervený-Taras-4	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Cervený-Taras-5	.....	.....	G	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300
DL-Prasilske-1	TGACAA	CGGCGG	TATCAAG	CTCTAC	AAACAG	AGGAAGA	GTAAAC	GGGGACT	ATCGATT	AAGGGCAAGCTCCTCTATTTGGATAAAGTCCGCCATAA
DL-Prasilske-2	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-4	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-5	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-6	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
DL-Prasilske-7	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....

DL-Pekna-4	.....
DL-Svetlohorska-1	.....
DL-Svetlohorska-2	.....
DL-Svetlohorska-3	.....
DL-Svetlohorska-4	.....
DL-Svetlohorska-5	.....
DL-Tokaniste-1	.....
DL-Tokaniste-2	.....
DL-Tokaniste-3	.....
DL-Tokaniste-4	.....
DL-Polecka-1	.....
DL-Polecka-2	.....
DL-Polecka-3	.....
DL-Rybnicek-1	.....
DL-Rybnicek-2	.....
DL-Rybnicek-3	.....A.....
DL-Rybnicek-4	.....
DL-Rybnicek-5	.....A.....
DL-Zdarecke-1	.....
DL-Zdarecke-2	.....
DL-Chlumsky-1	.....A.....
DL-Chlumsky-2	.....A.....
DL-Chlumsky-3	.....A.....
DL-Chlumsky-4	.....A.....
DL-Cerveny-Taras-2	.....
DL-Cerveny-Taras-3	.....A.....
DL-Cerveny-Taras-4	.....
DL-Cerveny-Taras-5	.....

	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400
DL-Prasilske-1	TCTTTGGGTTTGAAGAACAACTTTTACTACCGTCTAAATATAAATCAGAAATACAGGGTATCTAATCCTGGTTTAAATCAGAGTTTTTAAATTCCTA									

DL-Prasilske-2	.....
DL-Prasilske-3	.....
DL-Prasilske-4	.....
DL-Prasilske-5	.....
DL-Prasilske-6	.....
DL-Prasilske-7	.....
DL-Pekna-4	.....
DL-Svetlohorska-1	.....
DL-Svetlohorska-2	.....
DL-Svetlohorska-3	.....
DL-Svetlohorska-4	.....
DL-Svetlohorska-5	.....
DL-Tokaniste-1	.....
DL-Tokaniste-2	.....
DL-Tokaniste-3	.....
DL-Tokaniste-4	.....
DL-Polecka-1	.....
DL-Polecka-2	.....
DL-Polecka-3	.....
DL-Rybnicek-1	.....
DL-Rybnicek-2	.....
DL-Rybnicek-3	.....G.....
DL-Rybnicek-4	.....
DL-Rybnicek-5	.....G.....
DL-Zdarecke-1	.....
DL-Zdarecke-2	.....
DL-Chlumsky-1	.....
DL-Chlumsky-2	.....G.....
DL-Chlumsky-3	.....G.....
DL-Chlumsky-4	.....
DL-Cerveny-Taras-2	.....
DL-Cerveny-Taras-3	.....G.....
DL-Cerveny-Taras-4	.....
DL-Cerveny-Taras-5	.....

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500
DL-Prasilske-1	TTAATTTTAAAGAAGGAAAACTCTTATACTGATTTACCCCAACAGAAA GCTAAATTAACCTCAAAATTTAACGTTAACTAAATTAACACTCAT									

DL-Prasilske-2	.....
DL-Prasilske-3	.....
DL-Prasilske-4	.....
DL-Prasilske-5	.....
DL-Prasilske-6	.....A.....
DL-Prasilske-7	.....A.....
DL-Pekna-4	.....
DL-Svetlohorska-1	.....A.....
DL-Svetlohorska-2	.....A.....
DL-Svetlohorska-3	.....A.....
DL-Svetlohorska-4	.....A.....
DL-Svetlohorska-5	.....A.....
DL-Tokaniste-1	.....A.....
DL-Tokaniste-2	.....A.....
DL-Tokaniste-3	.....A.....
DL-Tokaniste-4	.....A.....
DL-Polecka-1	.....A.....
DL-Polecka-2	.....A.....

DL-Polecka-3	.....A.....
DL-Rybnicek-1	.....A.....
DL-Rybnicek-2	.....A.....
DL-Rybnicek-3	.....A.....
DL-Rybnicek-4	.....A.....
DL-Rybnicek-5	.....A.....
DL-Zdarecke-1	.....A.....
DL-Zdarecke-2	.....A.....
DL-Chlumsky-1	.....A.....
DL-Chlumsky-2	.....A.....
DL-Chlumsky-3	.....A.....
DL-Chlumsky-4	.....A.....
DL-Cervený-Taras-2	.....A.....
DL-Cervený-Taras-3	.....A.....
DL-Cervený-Taras-4	.....A.....
DL-Cervený-Taras-5	.....A.....

	510          520
	..... ..... ..... ..... .....
DL-Prasilske-1	TCTATACGGATTCTTCGTCTAACC
DL-Prasilske-2	.....
DL-Prasilske-3	.....
DL-Prasilske-4	.....
DL-Prasilske-5	.....
DL-Prasilske-6	.....
DL-Prasilske-7	.....
DL-Pekna-4	.....
DL-Svetlohorská-1	.....
DL-Svetlohorská-2	.....
DL-Svetlohorská-3	.....
DL-Svetlohorská-4	.....
DL-Svetlohorská-5	.....
DL-Tokaniste-1	.....
DL-Tokaniste-2	.....
DL-Tokaniste-3	.....
DL-Tokaniste-4	.....
DL-Polecka-1	.....
DL-Polecka-2	.....
DL-Polecka-3	.....
DL-Rybnicek-1	.....
DL-Rybnicek-2	.....
DL-Rybnicek-3	.....
DL-Rybnicek-4	.....
DL-Rybnicek-5	.....
DL-Zdarecke-1	.....
DL-Zdarecke-2	.....
DL-Chlumsky-1	.....
DL-Chlumsky-2	.....
DL-Chlumsky-3	.....
DL-Chlumsky-4	.....
DL-Cervený-Taras-2	.....
DL-Cervený-Taras-3	.....
DL-Cervený-Taras-4	.....
DL-Cervený-Taras-5	.....



**Příloha P2:** Fotodokumentace vybraných druhů zooplanktonu (Autor: M. Bartošíková)



Foto 1: *Cyclops abyssorum*



Foto 2: *Bosmina longirostris*



Foto 3: *Daphnia longispina*



Foto 4: *Holopedium gibberum*